

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



FOR



(43) Date de la publication internationale
3 janvier 2002 (03.01.2002)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 02/00746 A2

(51) Classification internationale des brevets⁷ :
C08F 287/00, B01D 57/02, G01N 27/44, C08K 5/00,
C08F 297/00, 297/02, 251/00, 265/04, 265/10, B01J 19/08

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR01/02117

(22) Date de dépôt international : 2 juillet 2001 (02.07.2001)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
00/08528 30 juin 2000 (30.06.2000) FR

(71) Déposants (pour tous les États désignés sauf US) :
INSTITUT CURIE [FR/FR]; 26, rue d'Ulm, F-75248
Paris Cedex 05 (FR). CENTRE NATIONAL DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE (C.N.R.S.) [FR/FR];
3, rue Michel Ange, F-75016 Paris (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : VIOVY,
Jean-Louis [FR/FR]; 26, rue de l'Espérance, F-75013
Paris (FR). BARBIER, Valessa [FR/FR]; 9, rue du Doc-
teur Jacquemaire-Clémenceau, F-75015 Paris (FR).

(74) Mandataire : JACOBSON, Claude; Cabinet Lavoix, 2,
place d'Etienne d'Orves, F-75441 Paris Cedex 09 (FR).

(81) États désignés (national) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,
BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ,
DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,
MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL,
TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) États désignés (régional) : brevet ARIPO (GH, GM, KE,
LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), brevet eurasien
(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen
(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU,
MC, NL, PT, SE, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,
CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— sans rapport de recherche internationale, sera republiée
dès réception de ce rapport

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrévia-
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de
la Gazette du PCT.

(54) Title: TREATMENT SOLUTION MINIMISING ADSORPTION AND/OR ELECTROOSMOSIS PHENOMENA

(54) Titre : SOLUTION DE TRAITEMENT DE SURFACE MINIMISANT LES PHENOMENES D'ADSORPTION ET/OU
D'ELECTROOSMOSE

(57) Abstract: The invention concerns a surface treatment solution for an element designed to be contacted with a fluid and/or species contained in said fluid when said fluid is being transported, analysed, purified, separated or preserved. Said method is characterised in that said solution comprises at least a polymer consisting of several polymeric segments, said polymer being of the block copolymer type or comb-like polymer type having at least three junction points between the polymeric segments of different chemical or topological nature. The invention also concerns methods using said solution for treating an element to be contacted with a fluid and/or species contained in said fluid during preservation, transport, analysis, purification or separation of said fluid.

(57) Abrégé : La présente invention a pour objet une solution de traitement de surface d'un élément destiné à être mis en contact avec un fluide et/ou des espèces contenues dans ce fluide lors du transport, de l'analyse, de la purification, de la séparation ou de la conservation dudit fluide, caractérisée en ce que ladite solution comprend au moins un polymère composé de plusieurs segments polymériques, ledit polymère étant du type copolymère-bloc ou polymère en peigne et présentant en moyenne au moins trois points de jonction entre des segments polymériques de nature chimique ou topologique différente. Elle a également pour objet des procédés pour traiter à l'aide de ladite solution, un élément destiné à être mis en contact avec un fluide et/ou des espèces contenues dans ce fluide lors de la conservation, du transport, de l'analyse, de la purification ou de la séparation dudit fluide.

WO 02/00746 A2

SOLUTION DE TRAITEMENT DE SURFACE MINIMISANT LES PHENOMENES
D'ADSORPTION ET/OU D'ELECTROOSMOSE.

La présente invention concerne le transfert, l'analyse, la purification ou la séparation, au sein d'un canal, d'un fluide ou d'espèces contenues dans ledit
5 fluide, ou la conservation d'un fluide dans un récipient, et vise plus particulièrement à proposer une solution de traitement de surface utile pour réduire significativement l'adsorption non-spécifique d'espèces contenues dans ce fluide, sur les parois dudit canal ou dudit récipient.

L'invention est plus particulièrement avantageuse pour les méthodes
10 dans lesquelles ledit fluide est contenu dans des canaux ou des capillaires dont l'une des dimensions au moins est submillimétrique, et typiquement comprise entre 1 μm et 200 μm (appelés dans la suite microcanaux).

Plus particulièrement, l'invention a trait aux techniques d'analyse ou de séparation d'espèces, selon lesquelles il est nécessaire de transporter lesdites
15 espèces dans un canal, tout en minimisant les interactions non-spécifiques desdites espèces ou d'autres composantes dudit milieu, avec les parois dudit canal ou plus généralement avec des parois ou éléments solides présents dans ledit canal ou ledit milieu. Il s'agit en particulier de méthodes de séparation ou d'analyse de macromolécules biologiques par électrophorèse capillaire, par
20 chromatographie, ou par toute méthode mise en jeu dans des microcanaux (systèmes microfluidiques, "laboratoires sur puces"). Des exemples de tels systèmes sont décrits par exemple dans "Capillary electrophoresis in analytical biotechnology", Righetti ed., CRC press, 1996, ou dans Cheng, J. et coll., (1996), Molecular Diagnosis, 1, 183-200. L'invention est particulièrement utile
25 dans le cas de l'électrophorèse.

L'invention a également trait aux techniques dites d'hybridation ou d'affinité, dans lesquelles on souhaite analyser, au sein d'un canal ou d'un récipient les espèces contenues dans un échantillon, en fonction de leur affinité spécifique vis à vis de ligands contenus dans le dit canal ou récipient, ou fixés
30 à des emplacements prédéterminés sur les parois dudit récipient ou dudit canal.

Dans le cadre de l'invention, on entend utiliser "adsorption non-spécifique", selon l'acceptation usuelle chez l'homme de l'art, comme une interaction attractive entre certaines espèces ou impuretés contenues dans un échantillon et les parois du récipient et du canal, et dépendant de façon faible ou insuffisamment contrôlée des caractéristiques desdites espèces ou impuretés. Dans la suite, on utilisera indifféremment "adsorption" ou "adsorption non-spécifique" pour désigner cette dernière, par opposition à une interaction d'affinité spécifique. Par affinité, on entend une interaction entre une espèce et un substrat, dont la force dépend de ladite espèce et dudit substrat de façon importante, et en tout état de cause suffisante pour induire la séparation ou l'identification de différentes espèces en fonction de leurs caractéristiques biologiques ou physico-chimiques.

Dans ce qui suit, on désignera par "système microfluidique", tout système dans lequel des fluides et/ou des espèces contenues dans un fluide sont mus au sein d'un canal ou d'un ensemble de canaux dont l'une des dimensions au moins est submillimétrique, et on désignera par électrophorèse capillaire (EC) les systèmes microfluidiques dans lesquels le transport des espèces s'effectue sous l'action d'un champ électrique. L'EC et les systèmes microfluidiques permettent des séparations plus rapides et plus résolutes que les méthodes plus anciennes d'électrophorèse sur gel, ne réclament pas de milieu anticonvectif, et leurs propriétés ont été utilisées largement pour effectuer des séparations d'ions en milieu liquide.

A l'heure actuelle, la grande majorité des séparations de macromolécules biologiques effectuées en EC ont recours, en tant que milieu de séparation, à des solutions de polymères hydrosolubles linéaires non-réticulés présentant l'avantage de pouvoir être remplacées aussi souvent que nécessaire. De nombreux polymères non réticulés ont été proposés comme milieux pour la séparation d'espèces au sein d'un canal, en particulier dans le contexte de l'électrophorèse capillaire.

Un problème majeur pour toutes les méthodes mettant en jeu des espèces au sein de canaux est l'adsorption non spécifique desdites espèces

aux parois desdits canaux. Ce problème est particulièrement exacerbé dans le cas de canaux de petites dimensions et de macromolécules biologiques, ces dernières étant souvent amphiphiles.

Ce phénomène d'adsorption non spécifique aux parois d'espèces
 5 contenues dans l'échantillon ou le fluide a pour conséquence de retarder certains analytes et de créer une dispersion supplémentaire et donc une perte de résolution, dans le cas des méthodes analytiques. Cette adsorption peut également donner lieu à une contamination des parois du canal, susceptible d'affecter les fluides qu'on souhaite introduire dans ce dernier par la suite.
 10 Enfin, si l'analyse qu'on souhaite effectuer sur les espèces met en jeu une interaction spécifique des espèces avec le milieu de séparation, comme dans les méthodes de chromatographie, d'électrochromatographie ou d'électrophorèse d'affinité, ou avec des zones prédéterminées des parois, comme dans les méthodes d'hybridation telles que les "puces à ADN" ou les
 15 "puces à protéines", ou encore avec des parois solides contenues dans le canal ou récipient, comme dans les méthodes de séparation par affinité avec des latex. Ces phénomènes d'adsorption peuvent entrer en compétition avec les interactions spécifiques recherchées, et fausser ou empêcher l'analyse.

Une autre limitation, qui concerne plus particulièrement les méthodes de
 20 séparation électrocinétiques, est l'électroosmose, un mouvement d'ensemble du milieu de séparation dû à la présence de charges sur les parois du capillaire ou du canal. Ce mouvement étant souvent variable dans le temps et non-uniforme, il nuit à la reproductibilité des mesures et à la résolution. Il est dû aux charges qui peuvent être présentes à la surface du capillaire du fait de sa
 25 structure chimique, mais peut également être généré ou augmenté par l'adsorption sur la paroi d'espèces chargées initialement contenues dans les échantillons à séparer, et en particulier des protéines.

La présente invention est plus particulièrement concernée par l'inhibition de ces deux phénomènes, à savoir adsorption des espèces aux surfaces et/ou
 30 électroosmose.

Des méthodes ont déjà été proposées pour combattre l'électroosmose et/ou l'adsorption d'espèces à des surfaces. Un premier type de méthodes implique un traitement de la surface du canal par adsorption d'espèces essentiellement neutres, préalablement à la séparation proprement dite
 5 (Wiktorowicz et coll., Electrophoresis, 11, 769, 1990, Tsuji et coll., J. Chromatogr. 594, 317 (1992). Il a également été proposé d'adsorber des agents de surface de charge opposée à celle de la paroi, pour renforcer l'adhésion par interactions électrostatique.

En fait, ces méthodes réduisent dans une certaine mesure
 10 l'électroosmose, mais elles sont peu efficaces pour empêcher l'adsorption d'espèces complexes de forte masse moléculaire, telles que par exemple les protéines.

Une solution plus efficace consiste à greffer de façon irréversible une couche polymérique essentiellement neutre tel que l'acrylamide ou l'alcool
 15 polyvinylique sur les parois, comme par exemple décrit dans US 4 680 201, ou encore US 5 502 169, ou US 5 112 460. Des capillaires traités prêts à l'emploi sont ainsi disponibles commercialement. Ces capillaires traités de façon irréversible conduisent à une bonne réduction de l'électroosmose pour un certain nombre de séparations. Malheureusement, leur durée de vie est limitée
 20 et leur coût élevé.

Il a également été proposé d'utiliser au sein du milieu de séparation des polymères à propriétés d'adsorption aux parois, telles que la méthylcellulose (Hjerten, Chromatographic reviews, 9, 122, 1967), ou la polyvinylpyrrolidone (Mazzeo et coll., Anal. Chem., 63, 2852, 1991). Dans la demande WO
 25 98/10274, il est proposé des copolymères présentant une affinité avec les parois de silice et capables de réduire significativement l'électroosmose. Les polymères décrits sont des polymères triblocs de faibles masses moléculaires (typiquement inférieures à 20 000), de la famille polyoxyéthylène-polyoxypropylène-polyoxypropylène (POE-POP-POE). Cependant, ces
 30 polymères ont une gamme d'applications limitée. Ils nécessitent un changement de température entre l'introduction dans le capillaire et la phase

d'analyse, ils n'exercent leur effet bénéfique qu'à des concentrations élevées, et ils sont également relativement hydrophobes ce qui les rend impropres par exemple au séquençage de l'ADN. De plus, dans ces différentes méthodes de l'art antérieur mettant en jeu des polymères au sein du milieu de séparation, la
5 présence du polymère s'accompagne d'une variation importante des propriétés physiques, et en particulier d'une augmentation importante de la viscosité, qui peut poser des problèmes pour l'introduction du fluide dans le canal, et pour les propriétés de séparation elles-mêmes.

Dans US 5, 552 028, il est également proposé d'utiliser des milieux de
10 séparation comportant un milieu tamisant et un composant d'interaction de surface constitué par un polymères à propriétés d'adsorption aux parois, de masse moléculaire comprise entre 5 000 et 1 000 000, du type polymère de d'acrylamide disubstitué. Ces matrices, et plus particulièrement le polydiméthylacrylamide (PDMA) permettent de réduire l'électroosmose et
15 conduisent pour certaines applications, comme le séquençage, à de bonnes propriétés de séparation. Cependant, elles sont relativement hydrophobes, ce qui limite leurs performances pour certaines applications comme le séquençage de l'ADN, et est encore plus néfaste pour d'autres applications comme la séparation de protéines. Par ailleurs, elles conduisent à des séparations lentes.

20 En conséquence, bien que de nombreuses méthodes aient été proposées pour réduire l'adsorption aux parois et/ou l'électroosmose, elles ne s'avèrent pas totalement satisfaisantes.

La présente invention a précisément pour objet de proposer une
25 nouvelle famille de solutions de traitement de surfaces, avantageuse pour minimiser les phénomènes d'adsorption non-spécifique et d'électroosmose.

Plus particulièrement, la présente invention a pour objet une solution de traitement de surface d'un élément destiné à être mis en contact avec un fluide et/ou des espèces contenues dans ce fluide lors du transport, de l'analyse, de
30 la purification, de la séparation ou de la conservation dudit fluide, caractérisée en ce que ladite solution comprend au moins un polymère composé de

plusieurs segments polymériques, ledit polymère étant du type copolymère-bloc ou polymère en peigne et présentant en moyenne au moins trois points de jonction entre des segments polymériques de nature chimique ou topologique différente.

5 On entend par "réticulé", selon l'acceptation habituelle chez l'homme de l'art, un ensemble de polymères présentant entre eux un réseau à grande échelle de points de réticulation, qui confère à cet ensemble de polymères les propriétés d'un solide ou d'un gel.

 Au sein de la présente invention, on entend plus particulièrement
10 désigner sous le terme "élément", principalement tout canal utilisé pour le transport, l'analyse, la purification et la séparation d'un fluide ou d'espèces contenues dans ce fluide, ou tout récipient utilisé pour conserver un fluide. Sont également couvertes sous cette définition, les particules solides de type billes par exemple, susceptibles d'être mises en contact avec un fluide à des fins
15 d'analyse, de séparation ou de purification, notamment par affinité. Cette définition s'étend également à tout élément destiné à constituer une paroi d'un canal ou d'un récipient utilisé lors d'une opération de transport, d'analyse, de purification, de conservation ou de séparation d'un fluide ou d'espèces contenues dans ce fluide, ou à faire partie de ladite paroi. Entre en particulier
20 dans le cadre de l'invention le traitement à l'aide d'une telle solution, de la surface de "puces à ADN", telles que décrites par exemple dans "Nature Genetics", 1999, 21, 1-60, de "puces à protéines", de plaques de microtitration, ou plus généralement de surfaces destinées à être mises en contact avec un fluide dans un système d'analyse ou de séparation, ou dans un système de
25 "criblage à haut débit".

 Selon une variante privilégiée, le polymère selon l'invention est d'une composition chimique différente de celle des matériaux constituant ledit élément. Il peut ainsi conférer aux parois dudit canal ou dudit récipient des propriétés avantageuses, difficiles ou impossibles à obtenir en son absence
30 compte tenu de la nature chimique des éléments composant le canal ou le récipient.

Avantageusement donc, les polymères mis en jeu selon l'invention minimisent l'adsorption d'espèces aux parois et améliorent ainsi soit le taux de récupération de celles-ci, par exemple dans les systèmes préparatifs ou micropréparatifs, soit la résolution dans les méthodes analytiques, soit encore évitent la contamination desdites parois, en particulier lors du transport, de l'analyse ou de la conservation de fluides biologiques susceptibles de contamination.

10 Au sens de l'invention, on entend désigner par "polymère" un produit constitué par un ensemble de macromolécules et caractérisé par certaines propriétés telles que la masse moléculaire, la polymolécularité, la composition chimique et/ou la microstructure. On entend désigner par polymolécularité la distribution de masse moléculaire des macromolécules, au sens de la moyenne
15 en masse familière aux hommes de l'art. Par microstructure, on entend la façon dont sont agencés au sein des macromolécules les monomères entrant dans leur composition chimique.

L'invention est particulièrement avantageuse dans le cas de méthodes
20 de séparation d'espèces au sein d'un fluide. Au sens de l'invention, on entend couvrir sous l'expression séparation, toute méthode visant à séparer, identifier ou analyser, l'ensemble ou certaines des espèces contenues dans un échantillon. Le fluide est dans ce cas appelé "milieu de séparation". On entend désigner sous le terme "espèces" de manière générale des particules,
25 organelles ou cellules, des molécules ou macromolécules, et en particulier des macromolécules biologiques comme les acides nucléiques (ADN, ARN, oligonucléotides), les analogues d'acides nucléiques obtenus par synthèse ou modification chimique, les protéines, les polypeptides, les glycopeptides et les polysaccharides. Dans les méthodes analytiques, les dites espèces sont
30 communément appelées "analytes".

L'invention est particulièrement avantageuse dans le cas de méthodes de séparation électrocinétiques.

On entend couvrir sous l'expression "séparation électrocinétique", toute méthode visant à séparer l'ensemble ou certaines des espèces contenues dans un mélange, en les faisant migrer au sein d'un milieu sous l'action d'un champ électrique, que le champ exerce son action motrice sur les analytes de façon directe ou indirecte, par exemple par l'intermédiaire d'un déplacement du milieu lui-même, comme dans l'électrochromatographie, ou d'un déplacement d'espèces annexes telles que des micelles, dans le cas de l'électrochromatographie micellaire, ou par n'importe quelle combinaison d'actions directes et indirectes. Sera également considérée comme une méthode de séparation électrocinétique selon l'invention toute méthode de séparation dans laquelle ladite action du champ électrique est combinée à une autre action motrice d'origine non-électrique. Sont de ce fait appelées "électrocinétiques", les méthodes d'électrophorèse capillaire ou d'électrophorèse sur "chips".

De façon avantageuse, en particulier dans le cas de séparations électrocinétique, le fluide est constitué par un électrolyte.

Au sens de l'invention, on entend désigner par électrolyte, un milieu condensé capable de conduire les ions. Dans le cas le plus courant, ce milieu est un milieu aqueux tamponné, comme les tampons à base de phosphate, de tris(hydroxyméthyl)aminométhane (TRIS), de Borate, de N-tris(hydroxyméthyl)méthyl-3-aminopropane sulfonic acid (TAPS), d'histidine, de lysine, etc... De nombreux exemples de tampons utilisables en électrophorèse sont connus de l'homme de l'art, et un certain nombre d'entre eux sont décrits par exemple dans "Sambrook et coll.", "Molecular Cloning: a laboratory manual", Cold Spring Harbor Lab, New York, 1989. Cependant, tous types d'électrolyte peuvent être utilisés dans le cadre de l'invention notamment les solvants hydroorganiques comme à titre d'exemple les mélanges eau-acétonitrile, eau-formamide ou eau-urée, les solvants organiques polaires tels que, encore à titre d'exemple, la N-méthylformamide. Les électrolytes dits

"tampons de séquençage", constitués par un tampon aqueux à pH alcalin additionné d'une proportion notable d'urée et/ou de formamide s'avèrent particulièrement utiles dans le cadre de l'invention.

On entend désigner par "canal" tout volume délimité par une ou
5 plusieurs parois solides, et présentant au moins deux orifices, destiné à contenir ou à être traversé par un fluide. On entend désigner par "récipient" tout volume délimité par plusieurs parois solides, présentant au moins un orifice et utilisé pour contenir un fluide.

L'invention est particulièrement avantageuse dans les systèmes
10 comportant au moins un canal ou un récipient dont une dimension au moins est de dimension submillimétrique, tels que les systèmes de séparation électrocinétique en capillaire, les systèmes microfluidiques, et plus généralement les systèmes pour la séparation d'espèces employant des micro canaux, des micro récipients ou des nanorécipients.

15

Selon une variante privilégiée, les polymères selon l'invention présentent en moyenne au moins quatre points de jonction, de préférence un nombre de points de jonction compris entre 4 et 100, et plus préférentiellement un nombre de points de jonction compris entre 4 et 40.

20 Par point de jonction, on entend un point reliant soit deux segments polymériques de nature chimique significativement différente, comme dans le cas d'un copolymère-bloc, soit un point de réticulation entre un nombre de segments polymériques, de nature chimique identique ou différente, supérieur à deux, comme dans les polymères en peigne.

25 A titre d'exemple, un polymère en peigne comportant trois branches latérales comporte trois points de jonction et sept segments polymériques distincts. Toujours à titre d'exemple, un copolymère-bloc séquencé de type A-B-A-B comporte trois points de jonction et quatre segments polymériques distincts.

30 Au titre de l'invention, on entend désigner par "segment polymérique" ou "segment" un ensemble de monomères liés entre eux de façon covalente et

linéaire, et appartenant à un type donné de composition chimique, c'est-à-dire présentant globalement des propriétés physicochimiques spécifiques, en particulier en ce qui concerne la solvation et/ou l'interaction avec une paroi solide. Un exemple de segment polymérique au sens de l'invention est donné
5 par un enchaînement de monomères tous identiques (segment homopolymère), ou un copolymère ne présentant pas de corrélation de composition significative sur des distances de plus de quelques monomères (segment de type copolymère statistique).

Au sens de l'invention, on entend désigner par copolymère-bloc, un
10 copolymère constitué de segments polymériques reliés entre eux de façon covalente, et appartenant à au moins deux types différents de composition chimique. Ainsi, deux segments polymériques adjacents au sein d'un copolymère-bloc sont par définition dans le cadre de l'invention de nature chimique significativement différente. Le copolymère-bloc se définit par le fait
15 que chacun des segments comporte un nombre suffisant de monomères pour présenter au sein de l'électrolyte des propriétés physicochimiques et en particulier de solvation, comparables à celles d'un homopolymère de même composition et de même taille. Il s'oppose au copolymère statistique, dans lequel les différents types de monomères se succèdent de façon
20 essentiellement statistique, et confèrent localement à la chaîne des propriétés globales, différentes de celles des homopolymères de chacune des espèces en question. La taille des segments homopolymères nécessaires pour obtenir ce caractère bloc peut varier en fonction des types de monomères et de l'électrolyte, mais elle est typiquement de quelques dizaines d'atomes le long
25 du squelette dudit segment. Il est à noter qu'on peut constituer un copolymère bloc au sens de l'invention, dans lequel partie ou totalité des segments sont eux-mêmes constitués par un copolymère de type statistique, dans la mesure où on peut distinguer au sein dudit copolymère bloc des segments polymériques de taille et de différence de composition chimique suffisantes
30 pour donner lieu d'un segment à l'autre à une variation significative des propriétés physicochimiques et en particulier de solvation et/ou d'interaction

avec les parois. En particulier, pour être considérée comme "segment polymérique" au sens de l'invention, une portion de polymère doit comporter le long de son squelette au moins 10 atomes.

Selon une variante privilégiée, le polymère selon l'invention est du type
5 copolymère bloc séquencé.

Au sens de l'invention, on entend par "copolymère bloc séquencé" un copolymère bloc composé de segments polymériques appartenant à au moins deux types chimiques distincts, lesdits segments polymériques s'enchaînant de façon linéaire.

10 Selon une autre variante privilégiée, le polymère selon l'invention est du type polymère en peigne.

Au sens de l'invention, on entend désigner par "polymère en peigne", un polymère présentant un squelette linéaire d'une certaine nature chimique, et des segments polymériques appelés "branches latérales", d'une nature
15 chimique identique ou différente, également linéaires mais significativement plus courts que le squelette, attachés de façon covalente audit squelette par une de leurs extrémités. Dans un polymère en peigne, les segments polymériques constituant le squelette et ceux constituant les branches latérales diffèrent par leur nature topologique. Si les segments polymériques constituant
20 les branches latérales du polymère en peigne et ceux constituant son squelette diffèrent également par leur nature chimique, le polymère présente à la fois la caractéristique de "polymère en peigne" et celle de "copolymère-bloc". De tels polymères, qu'on appelle "copolymères en peigne", constituent un sous-ensemble des polymères en peigne et peuvent bien sûr être utilisés dans le
25 cadre de l'invention.

Le nombre de segments polymériques d'un type chimique ou topologique donné présents dans les polymères selon l'invention s'entend en valeur moyenne, étant entendu qu'il s'agit toujours d'une population d'un grand
30 nombre de molécules, présentant dans lesdits nombres une certaine polydispersité. Dans la présente description et sauf mention contraire, toutes

les masses moléculaires, ainsi que toutes les moyennes sur des ensembles de chaînes ou sur des ensembles de segments polymériques, comme la masse moléculaire moyenne, le nombre moyen d'atomes le long du squelette, le nombre de points de jonction, ou encore le nombre moyen de greffons dans le cas d'un polymère en peigne, s'entendent comme des moyennes en masse au sens habituel de la physique des polymères.

Selon une variante privilégiée le polymère selon l'invention est de type irrégulier, c'est-à-dire que l'ensemble des segments d'au moins un type de nature chimique ou topologique entrant dans sa composition présentent une polymolécularité d'au moins 1,5, et de préférence supérieure à 1,8.

La polymolécularité d'un type de segments polymériques entrant dans la composition d'un polymère selon l'invention, s'entend comme la valeur moyenne de la masse moléculaire des dits segments, prise sur l'ensemble des segments de ce type (moyenne en masse au sens habituel de la physicochimie des polymères)

Une variante privilégiée de polymère en peigne irrégulier, consiste à présenter une polymolécularité des branches latérales d'au moins 1,5, et de préférence supérieure à 1,8.

Une autre variante privilégiée de polymère en peigne irrégulier consiste à présenter une polymolécularité des segments du squelette comprise entre deux branches latérales d'au moins 1,5, et de préférence supérieure à 1,8.

Dans un autre mode de réalisation plus préférentiel, les segments de chacun des types de nature chimique ou topologique entrant dans la composition du polymère selon l'invention, présentent une polymolécularité d'au moins 1,5, et de préférence supérieure à 1,8.

Selon un mode de mise œuvre privilégié, les polymères selon l'invention ont une masse moléculaire (moyenne en masse) supérieure à 50 000, de préférence supérieure à 300 000, de préférence encore supérieure à 1 000 000, et plus encore supérieure à 3 000 000.

Selon un mode de mise en œuvre privilégié, la polymolécularité des polymères selon l'invention est supérieure à 1,5, et de préférence supérieure à 1,8.

La longueur et le nombre des segments polymériques présents dans les polymères en peigne ou les copolymères mis en œuvre au sein des milieux selon l'invention, ainsi que leur nature chimique, peuvent varier significativement dans le cadre de l'invention, et on peut ainsi faire varier grandement les propriétés des dits milieux selon l'application désirée, comme il sera montré plus précisément à l'exposé des exemples de mise en œuvre.

10

Les polymères contenus dans la solution selon l'invention manifestent une affinité significative pour les parois dudit canal, en présence du fluide au sein duquel s'effectue le transport ou la séparation.

Un mode particulièrement privilégié est constitué par un copolymère possédant au moins un type de segments polymériques manifestant, en présence du fluide, une affinité particulière avec la paroi, et au moins un type de segments polymériques présentant dans ledit fluide moins ou pas d'affinité avec la paroi.

Typiquement, des types de segments polymériques ne présentant pas d'affinité avec la paroi sont constitués de polymères facilement solubilisables dans le fluide. Par contre, il peut exister des polymères solubles dans le fluide, et présentant néanmoins dans celui-ci une affinité particulière pour une paroi. Dans le cas où le fluide est une solution aqueuse, des segments sans affinité avec la paroi sont typiquement des segments très hydrophiles. En revanche, des segments avec affinité sont peu hydrophiles voire hydrophobes. Bien entendu, d'autres types d'affinité plus spécifiques peuvent être utilisés, selon la nature de la paroi et celle du fluide. Des copolymères optimisés pour la mise en œuvre de l'invention sont notamment ceux dans lesquels l'ensemble des segments présentant une affinité particulière avec la paroi représente entre 2 et 80 % en masse, de préférence entre 5 et 50 %, de la masse molaire totale moyenne desdits copolymères, ou entre 3 et 90 % et de préférence entre 5 et

60 % de la composition totale des copolymères en nombre de moles de monomères.

Selon un autre mode de mise en œuvre privilégié, les copolymères optimisés pour la mise en œuvre de l'invention sont notamment ceux dans
 5 lesquels l'ensemble des segments présentant une affinité particulière avec la paroi représente entre 2 et 25% en masse, de préférence entre 5 et 15 %, de la masse molaire totale moyenne desdits copolymères, ou entre 3 et 30 % et de préférence entre 5 et 20 % de la composition totale des copolymères en nombre de moles de monomères.

10 A titre illustratif des différentes structures susceptibles d'être adoptées par le polymère selon l'invention, on peut tout particulièrement citer celles où tout ou partie dudit polymère se présente :

- sous la forme de copolymères blocs séquencés. Dans ce cas, une variante privilégiée consiste à alterner le long du polymère des segments
 15 présentant une affinité particulière avec la paroi, et des segments présentant une affinité moindre ou nulle pour la paroi ;

- sous la forme de polymères en peigne. Dans ce cas, selon une première variante préférée tout ou partie dudit polymère se présente sous la forme de copolymères en peigne dont le squelette est constitué par plusieurs
 20 segments polymériques présentant une affinité particulière avec la paroi, et dont les branches latérales sont constituées de segments polymériques présentant une affinité moindre ou nulle pour la paroi. Selon une seconde variante préférée, tout ou partie dudit polymère se présente sous la forme de copolymères en peigne dont les branches latérales sont constituées par des
 25 segments polymériques présentant une affinité particulière pour la paroi, et dont le squelette est constitué par des segments polymériques présentant une affinité moindre ou nulle pour la paroi.

Selon un mode préféré de l'invention, l'ensemble des segments
 30 polymériques d'un type donné de nature chimique ou topologique possède le long de leur squelette, un nombre d'atomes supérieur à 75, et de préférence

encore supérieur à 210, ou présente une masse moléculaire supérieure à 1500, et de préférence supérieure à 4500.

Selon un mode encore plus privilégié, les différents types de segments
5 présentent le long de leur squelette, un nombre moyen d'atomes supérieur à 16, de préférence supérieur à 75, et de préférence encore supérieur à 210, ou présentent une masse moléculaire supérieure à 1500, et de préférence supérieure à 4500.

Il est particulièrement intéressant pour la mise en œuvre de l'invention
10 d'utiliser des copolymères-blocs ou des polymères en peigne dont un des types de segments est constitué d'un polymère choisi parmi les polyéthers, polyesters comme l'acide polyglycolique, les homopolymères et copolymères statistiques solubles du type polyoxyalkylène comme le polyoxypropylène, polyoxybutylène, polyoxyéthylène, les polysaccharides, l'alcool polyvinylique, la
15 polyvinylpyrrolidone, les polyuréthanes, les polyamides, les polysulfonamides, les polysulfoxydes, la polyoxazoline, le polystyrènesulfonate, les dérivés polyacrylamides et polyméthacrylamides substitués ou non, les polymères et copolymères porteurs de fonctions époxy, amine, thiol ou acide carboxylique

A titre représentatif des types de segments polymériques présentant
20 dans un fluide aqueux peu ou pas d'affinité avec les parois, on peut tout particulièrement citer le polyacrylamide et l'acide polyacrylique, le poly N-isopropylacrylamide, le polyacryloylaminopropanol, les polymères et copolymères acryliques et allyliques hydrosolubles, le dextrane, le
25 polyéthylène glycol, les polysaccharides et divers dérivés de la cellulose tels que l'hydroxyéthylcellulose, la méthylcellulose, l'hydroxypropylcellulose, l'hydroxypropylméthylcellulose, ou encore la méthylcellulose, l'alcool polyvinylique, les polyuréthanes, les polyamides, les polysulfonamides, les polysulfoxydes, la polyoxazoline, le polystyrènesulfonate, ainsi que les
30 polymères porteurs de groupements hydroxyles et tous les copolymères statistiques des dérivés mentionnés ci-dessus.

Bien entendu, d'autres segments polymériques solubles dans le fluide peuvent être utilisés selon l'invention, en fonction de la nature dudit fluide et de celle des parois du canal ou du récipient, de l'application particulière et de la facilité à les introduire au sein d'un polymère bloc de structure souhaitée.

5 A titre représentatif des types de segments polymériques, solubles ou non en solvants aqueux, et pouvant présentant dans ceux-ci une affinité particulière avec les parois, on peut citer le diméthylacrylamide, les acrylamides N-substitués par des fonctions alkyles, les acrylamides N,N disubstitués par des fonctions alkyles, l'allylglycidyléther, les copolymères des dérivés
10 acryliques ci-dessus entre eux ou avec d'autres dérivés acryliques, les alcanes, les dérivés fluorés, les silanes, les fluorosilanes, l'alcool polyvinylique, les polymères et copolymères impliquant des dérivés de l'oxazoline, ainsi que les d'une manière générale les polymères présentant une combinaison de liaisons Carbone-Carbone et/ou de fonctions éther-oxyde et/ou de fonctions époxyde,
15 ainsi que tous les copolymères statistiques de ces composés.

De nombreux types de segments polymériques peuvent être choisis pour constituer les segments polymériques constituant un polymère selon l'invention, en fonction de l'électrolyte envisagé, parmi les types de polymères
20 connus de l'homme de l'art, en particulier parmi ceux solubles en milieu aqueux. Il est ainsi possible de se reporter à l'ouvrage "Polymer Handbook" Brandrup & Immergut, John Wiley, New York.

Un autre mode de mise en œuvre privilégié, particulièrement intéressant quand les espèces à séparer sont des macromolécules biologiques, consiste à
25 utiliser des copolymères selon l'invention présentant en outre une affinité différente avec différents analytes.

Cette affinité peut être obtenue en intégrant dans la structure desdits polymères des segments aptes à présenter une affinité spécifique pour certaines espèces à séparer. De tels segments peuvent être constitués par
30 exemple et de façon non-exhaustive, par une séquence prédéterminée de monomères différents, comme un polynucléotide ou un polypeptide. Cette

affinité peut également être obtenue en associant au polymère selon l'invention une protéine native ou dénaturée, une fraction de protéine ou un complexe protéique, ou encore une fonction acide ou basique, et/ou une fonction de type acide ou base au sens de Lewis.

5 Selon cette variante, on peut envisager soit d'alterner le long d'un copolymère bloc séquencé des segments présentant une affinité spécifique avec certains analytes, et des segments présentant une affinité moindre ou nulle avec lesdits analytes, soit d'introduire dans un copolymère en peigne, des segments polymériques présentant une affinité spécifique pour certains
10 analytes, soit sous la forme de branches latérales supplémentaires ou de segments annexes au niveau de leur squelette.

Les polymères selon l'invention peuvent être des polymères naturels ou synthétiques. Selon un mode supplémentaire particulièrement avantageux, grâce au contrôle qu'il permet sur la structure, les polymères selon l'invention
15 sont des polymères synthétiques.

Conviennent tout particulièrement à l'invention:

- les copolymères du type copolymère bloc séquencé et présentant le long de leur squelette une alternance de segments de type polyoxyéthylène et
20 de segments de type polyoxypropylène, ou une alternance de segments de type polyoxyéthylène et de segments de type polyoxybutylène ou plus généralement une alternance de segments de polyéthylène et de segments de type polyéther notablement plus hydrophobes que le polyoxyéthylène ;
- les copolymères du type copolymère bloc séquencé et présentant le
25 long de leur squelette une alternance de segments de type acrylamide, acide acrylique, acryloylaminoéthanol ou diméthylacrylamide d'une part, et de segments de type (N,N)-diméthylacrylamide (pDMA), ou du type copolymère de DMA et d'allylglycidylether (AGE), ou encore d'homopolymère ou de copolymère d'oxazoline ou de dérivés de l'oxazoline ;
- 30 - les polymères du type polymère en peigne dont le squelette est de type polymère d'agarose, d'acrylamide, d'acrylamide substitué, d'acide acrylique,

d'acryloylaminoéthanol, de diméthylacrylamide (DMA), d'allylglycidyléther (AGE), de copolymère statistique de DMA et d'AGE, d'oxazoline de dérivés de l'oxazoline, de dextrane, de méthylcellulose, d'hydroxyéthylcellulose, de celluloses modifiées, de polysaccharides, d'éther-oxydes, et au niveau duquel
 5 sont greffés des segments latéraux de type polymère d'agarose, d'acrylamide, d'acrylamide substitué, d'acide acrylique, d'acryloylaminoéthanol, de diméthylacrylamide (DMA), d'allylglycidyléther (AGE), de copolymère statistique de DMA et d'AGE, d'oxazoline de dérivés de l'oxazoline, de dextrane, de méthylcellulose, d'hydroxyéthylcellulose, de celluloses modifiées, de
 10 polysaccharides, d'éther-oxydes, de N-isopropyl acrylamide.

- les copolymères du type copolymère en peigne dont le squelette est de type polymère d'acrylamide, d'acrylamide substitué, d'acide acrylique, d'acryloylaminoéthanol, de diméthylacrylamide (DMA), d'allylglycidyléther (AGE), de copolymère statistique de DMA et d'AGE, d'oxazoline, de dérivés de
 15 l'oxazoline, de dextrane, d'agarose, de méthylcellulose, d'hydroxyéthylcellulose, de celluloses modifiées, de polysaccharides, d'éther-oxydes, et est porteur de segments latéraux hydrophobes à courtes chaînes tels que des chaînes alkyles, des dérivés aromatiques, des fluoroalkyles, des silanes et des fluorosilanes.

20 - les copolymères du type copolymère en peigne dont le squelette est d'un type sélectionné pour son affinité forte avec une paroi du canal ou du récipient d'une nature chimique particulière, et en particulier du type polyoléfine, polymère de dérivés aromatiques, de fluoroalkyles, de silanes, de fluorosilanes, et est porteur de segments latéraux de type polymère de
 25 dextrane, d'agarose, d'acrylamide, d'acrylamide substitué, d'acide acrylique, d'acryloylaminoéthanol, de diméthylacrylamide (DMA), d'allylglycidylether (AGE), de copolymère statistique de DMA et d'AGE, d'oxazoline de dérivés de l'oxazoline, de dextrane, de méthylcellulose, d'hydroxyéthylcellulose, de celluloses modifiées, de polysaccharides, d'éther-oxydes, de N-
 30 isopropylacrylamide.

Il est également à noter que dans la majorité des applications, il est préférable d'utiliser un polymère selon l'invention essentiellement neutre. Il peut cependant être utile pour certaines applications, et en particulier pour éviter l'adsorption d'espèces présentant à la fois des charges et des parties hydrophobes, à choisir un polymère selon l'invention délibérément chargé, de préférence d'une charge opposée à celle desdites espèces.

Les copolymères selon l'invention sont avantageux en raison de leur capacité à combiner des propriétés appartenant à des polymères de nature chimique différente, qu'on ne peut pas toujours réunir dans un homopolymère ou un copolymère statistique. Ainsi, ils permettent d'adapter plus souplement la nature chimique du copolymère, en fonction d'une part de la nature chimique du fluide, et d'autre part de la nature chimique de la paroi des canaux ou récipients. Ils sont ainsi particulièrement avantageux dans les applications utilisant des canaux ou des récipients constitués de polymères ou d'élastomères tels que le PDMS (polydiméthylsiloxane), le PMMA (polyméthylméthacrylate), le polycarbonate, le polyéthylène, le polypropylène, le polyéthylène téréphtalate, le polyimide, le polycyclohexane, les polyuréthanes ou les matériaux inorganiques tels que le verre ordinaire, le verre borosilicate, le pyrex, la silice fondue, l'oxyde de silicium, les céramiques, le silicium, le diamant, la zircone, les semi-conducteurs. Par ailleurs, les polymères selon l'invention présentent la propriété unique de pouvoir disposer sur chaque polymère, d'un nombre important de segments polymériques présentant une affinité significative avec la paroi, ce qui permet une grande énergie d'adsorption, et donc une réduction durable de l'électroosmose, tout en contenant en outre un nombre important de boucles ne présentant pas d'affinité avec les parois, qui peuvent servir à éviter l'adsorption d'espèces.

En ce qui concerne la préparation des polymères mis en œuvre selon l'invention, elle peut être effectuée par toute technique conventionnelle de polymérisation ou polycondensation. Le choix de la méthode de préparation est

généralement effectué en prenant en compte la structure désirée pour le polymère à savoir peigne ou linéaire et la nature chimique des différents blocs le constituant.

A titre représentatif de ces variantes de préparation, on peut tout particulièrement citer les procédés selon lesquels lesdits polymères sont obtenus par :

- polycondensation, polymérisation ou copolymérisation, ionique ou radicalaire, de monomères identiques ou différents, de macromonomères identiques ou différents, ou d'un mélange de monomères et de macromonomères ou
- par greffage de plusieurs segments polymériques sur un squelette polymérique linéaire ou ramifié de nature chimique identique ou différente.

De manière préférée, tout ou partie des polymères mis en œuvre selon l'invention sont obtenus par

-a: copolymérisation de monomères et de macromonomères comportant à l'une au moins de leurs extrémités une fonction réactive, ou

-b: copolymérisation de macromonomères comportant au sein de leur structure au moins une fonction réactive.

Au sens de l'invention, on entend par fonction réactive un groupement permettant à la molécule porteuse de ce groupement d'être intégrée dans la macromolécule au cours de la réaction de copolymérisation sans interrompre la dite copolymérisation.

Selon les applications, la nature chimique du capillaire auquel est destinée la solution de traitement de surface et le choix particulier de polymère selon l'invention utilisé pour le traitement, ladite solution pourra comporter comme base pour la dissolution des copolymères selon l'invention, une solution aqueuse (de préférence tamponnée), un solvant organique, un solvant hydroorganique ou un électrolyte.

Dans une variante privilégiée, les polymères contenus dans les solutions

de traitement de surface selon l'invention se fixent sur les parois solides par adsorption physique sans établir de liaison covalente.

Selon une autre variante privilégiée, les polymères contenus dans les solutions de traitement de surface selon l'invention se fixent sur les parois solides par une ou plusieurs liaisons covalentes.

A l'aide des règles et modes privilégiés énoncés ci-dessus, l'homme de l'art est capable de préparer des polymères conformes à l'invention, en adaptant la structure, la nature et le mode de préparation des dits polymères en fonction des propriétés recherchées pour une application ou une autre.

L'invention a également pour objet un procédé de traitement de surface d'un élément, notamment pour éviter les phénomènes d'électroosmose et/ou d'adsorption non-spécifique d'espèces susceptibles de se manifester au niveau de cette surface lors de sa mise en contact avec un fluide et/ou d'espèces contenues dans ce fluide.

Plus précisément, il s'agit d'un procédé de traitement de surface d'un élément destiné à être mis en contact avec un fluide et/ou des espèces contenues dans ce fluide lors du transport, de l'analyse, de la purification, de la séparation et/ou de la conservation dudit fluide comprenant la mise en contact dudit élément avec au moins un polymère non réticulé, de type copolymère-bloc ou polymère en peigne et présentant en moyenne au moins trois points de jonction entre des segments polymériques de nature chimique ou topologique différente.

Pour la définition du polymère et de l'élément, on se reportera à la description précédente.

Selon une variante préférée de l'invention, le polymère est mis en œuvre sous la forme d'une solution aqueuse de polymère telle que revendiquée et de préférence contenant ledit polymère à une concentration comprise entre 0,01% et 20% et plus préférentiellement entre 0,1 et 5% en masse.

Selon un premier mode de réalisation, le procédé comprend le traitement de l'élément, préalablement à son utilisation, avec une solution de traitement conforme à l'invention.

Dans le cas où le traitement est effectué en vue d'une opération de transport ou de conservation, cette solution est d'une composition différente de celle du fluide destiné à être transporté ou conservé. Dans le cas où le traitement est effectué en vue d'une application en séparation, cette solution
5 est d'une composition différente de celle du milieu de séparation. Le traitement est obtenu en laissant ladite solution en contact avec les parois le temps nécessaire. Selon les applications et les modes de réalisation, ce temps peut être très variable, allant d'une fraction de secondes à plusieurs heures, voire pour les applications les plus difficiles plusieurs jours. Cette solution est ensuite
10 extraite du canal ou récipient, préalablement ou simultanément à son remplissage par ledit fluide. Selon cette variante, ledit fluide ne contient pas quant à lui les polymères selon l'invention. Ainsi, ces derniers ne restent présents dans le canal ou le récipient que sous une forme adsorbée aux parois, et ne contribuent pas à altérer les propriétés dudit fluide. En particulier, ils
15 n'augmentent pas significativement sa viscosité. Selon les applications, ce traitement peut être renouvelé entre chaque opération de transport ou de séparation, ou au contraire après un nombre donné de séparations, ou encore quand on constate une dégradation des propriétés qui le rend nécessaire.

Selon une variante privilégiée de l'invention, la mise au contact de ladite
20 solution de traitement de surface avec la surface de l'élément vis-à-vis duquel on souhaite réduire l'adsorption non-spécifique ou l'électroosmose, peut être suivie par un traitement destiné à renforcer l'action de la dite solution, comme, à titre d'exemple et de façon non restrictive, un traitement thermique, un traitement par un rayonnement (rayonnement lumineux, Ultraviolet, Rayons X,
25 Gamma, etc...), l'assèchement de la paroi, ou son incubation en présence d'un liquide différent de ladite solution.

Cependant, ce traitement n'est pas toujours nécessaire, et certains polymères selon l'invention entrant dans la composition des solutions de traitement de surfaces selon l'invention, sont capables de minimiser
30 efficacement l'adsorption non-spécifique et l'électroosmose sans traitement ultérieur.

Selon un mode de réalisation préféré en particulier si de nombreuses séparations sont effectuées entre deux traitements de surface avec une solution selon l'invention, la surface de l'élément peut être "régénérée" avant le traitement, par une solution destinée à nettoyer la paroi des impuretés adsorbées au cours des séparations. De tels traitements sont connus de l'homme de l'art, et peuvent avantageusement comporter un lavage par une solution acide, par une solution alcaline, par une solution de détergent, par un solvant organique, ou par une combinaison de ces méthodes.

Selon un second mode de réalisation, le procédé revendiqué comprend l'addition dudit polymère au fluide devant être transporté, analysé, purifié, séparé et/ou conservé.

Selon ce second mode de réalisation, les copolymères caractérisant les solutions de traitement de surface selon l'invention sont de préférence introduits directement dans le fluide transporté, conservé ou utilisé comme milieu de séparation, à une concentration suffisamment faible pour ne pas modifier significativement par ailleurs les autres propriétés d'usage du dit fluide, et en particulier sans augmenter sa viscosité au-delà d'un facteur 2, par rapport au même fluide en l'absence des dits polymères. Selon une variante encore plus privilégiée, les polymères selon l'invention ne modifient pas la viscosité dudit fluide au-delà d'un facteur 1,5.

En ce qui concerne le fluide dans lequel est introduit directement le polymère selon l'invention, il peut avantageusement contenir, outre les polymères selon l'invention, d'autres éléments, et en particulier des composants interagissant avec les espèces soit par interaction stérique soit par affinité, et capables d'induire entre elles une séparation totale ou partielle. De nombreux composants de ce type, tels que les polymères linéaires hydrophiles, les micelles, les surfactants, les composés chiraux, sont connus de l'homme de l'art.

Bien entendu, la présente invention s'étend à tout procédé de séparation, filtration, analyse et/ou purification impliquant la mise en œuvre du

procédé revendiqué. Ces procédés de filtration, séparation, analyse et/ou purification sont en partie identifiés ci-après.

La présente invention concerne également un élément, de préférence
5 canal, récipient, ou particules, ou encore tout élément destiné à constituer une paroi d'un canal ou d'un récipient utilisé lors d'une opération de transport, d'analyse, de purification de conservation ou de séparation d'un fluide ou d'espèces contenues dans ce fluide, ou à entrer dans la constitution de ladite paroi, traité avec la solution de traitement de surface revendiquée.

10 De tels éléments peuvent être utilisés pour la séparation, la purification, la filtration ou l'analyse d'espèces choisies parmi des espèces moléculaires ou macromoléculaires, et en particulier des macromolécules biologiques comme les acides nucléiques (ADN, ARN, oligonucléotides), les analogues d'acides nucléiques obtenus par synthèse ou modification chimique, les protéines, les
15 polypeptides, les glycopeptides et les polysaccharides, des molécules organiques, des macromolécules synthétiques ou des particules telles que des particules minérales, de latex, des cellules ou des organelles.

Les éléments traités selon l'invention sont également particulièrement utiles pour le séquençage de l'ADN, dans la mesure où ils permettent d'obtenir
20 des largeurs de bandes minimales. De même, ils s'avèrent appropriés pour la séparation de protéines, de protéoglycanes, ou de cellules, pour lesquelles on sait que les problèmes d'adsorption sur la parois sont particulièrement gênants et particulièrement difficiles à résoudre.

Cependant, la possibilité offerte par l'invention de faire varier
25 grandement la nature chimique de la surface est également avantageuse pour d'autres applications.

Les solutions de traitement de surface selon l'invention, les procédés mettant en jeu ces solutions et plus particulièrement les éléments traités selon l'invention sont utiles pour les applications de diagnostic, de génotypage, de
30 criblage à haut débit, de contrôle de qualité, ou pour la détection de présence d'organismes génétiquement modifiés dans un produit.

L'invention est également particulièrement avantageuse pour les techniques dites d'hybridation ou d'affinité, dans lesquelles on souhaite analyser ou séparer, au sein d'un canal ou d'un récipient, les espèces contenues dans un échantillon, en fonction de leur affinité spécifique respective vis-à-vis de ligands. Ces ligands sont soit contenus dans ledit canal ou récipient, soit fixés à des emplacements prédéterminés sur les parois dudit récipient ou du dit canal. L'invention permet d'effectuer ce type d'analyses, tout en évitant ou en minimisant l'adsorption non spécifique desdites espèces sur les parois du canal ou du récipient, ou sur des surfaces solides contenues dans ledit canal ou dans le dit récipient.

Selon un mode de réalisation privilégié, ce type de ligand peut être associé à l'élément à savoir canal, récipient, élément entrant dans la composition dudit canal ou récipient, ou particules, par le biais d'un traitement par une solution de traitement de surface selon l'invention. En l'occurrence, la solution de traitement selon l'invention assure deux fonctions. Elle réduit l'adsorption non-spécifique et apporte lesdits ligands ou contribue à les immobiliser au niveau dudit élément.

Une famille de polymères particulièrement avantageuse pour les applications d'analyse par affinité, est constitué par un copolymère-bloc présentant simultanément

1/ Une multiplicité de segments polymériques présentant une affinité spécifique pour une paroi du canal ou du récipient, ou certaines parties prédéterminées des dites parois, ou encore avec certaines surfaces solides présentes dans le dit canal ou de dit récipient, telles que la surfaces de particules ou billes de latex, et

2/ Un ou plusieurs segments polymériques ne présentant pas d'affinité avec lesdites parois ou surfaces, et porteurs de ligands spécifiques de certaines espèces qu'on souhaite analyser. Lesdits ligands peuvent être en particulier des oligonucléotides, des protéines, des anticorps, des peptides, ou plus généralement des polymères ou fragments de polymères biologiques ou synthétiques.

L'intérêt de l'invention dans cette application est de maintenir les ligands liés aux dites parois ou surfaces de façon indirecte, tout en maintenant lesdits ligands à une distance importante de ces dernières. En effet, dans le cadre de l'invention le ou les segments polymériques porteurs des ligands ne présentent
 5 pas d'affinité avec la paroi et en sont donc repoussés par les interactions stériques. Les polymères selon l'invention permettent donc aux analytes d'interagir avec les ligands, sans approcher des parois.

La présente invention a également pour objet l'utilisation de la solution
 10 revendiquée pour minimiser les phénomènes d'adsorption ou d'électroosmose se manifestant au niveau de la ou des surface(s) d'un élément destiné à être mis en contact avec un fluide et/ou des espèces contenues dans ce fluide lors du transport, de l'analyse, de la purification, de la séparation ou de la conservation dudit fluide.

15 L'invention est particulièrement intéressante pour le transport, l'analyse, ou la conservation d'un fluide biologique contenant ou susceptible d'être contaminé par des produits minéraux, organiques ou biologiques ou des organismes vivants.

20 En ce qui concerne les appareils, les solutions de traitement de surface, le procédé et les composants revendiqués sont particulièrement utiles pour les systèmes microfluidiques, les plaques de microtitration, les "puces à ADN et à protéines", et plus généralement tous les systèmes de transport et d'analyse impliquant de grands rapports surface/volume, car ils permettent à travers le
 25 choix optimal des différents types de blocs au sein des polymères, de combiner des blocs présentant une bonne affinité pour la surface des parois pour l'obtention d'un traitement durable, et des blocs présentant une bonne répulsion pour les espèces à séparer, et ce quelles que soient lesdites espèces et la nature chimique du dit composant.

Les figures et exemples donnés ci-après sont présentés à titre illustratif et non limitatif de la présente invention.

FIGURES :

5

Figure 1 : Electrophorégramme témoin représentant la séparation du sizer 50-500 bp, Pharmacia biotech, obtenus à 50°C dans un appareil ABI 310 (Perkin-Elmer), en utilisant comme milieu de séparation un tampon 100 mM Na TAPS, 2 mM EDTA, 7 M Urée, dans lequel est dissous 5% en poids d'acrylamide linéaire (Masse moléculaire 700 000~1000000), dans un capillaire non traité. Les nombres au-dessus des pics indiquent la taille du fragment d'ADN correspondant.

Figure 2 : Electrophorégramme témoin représentant une séparation identique à celle de la figure 1, dans un capillaire préalablement traité pendant 2 heures par une solution aqueuse à 3% de copolymère tribloc "pluronic F127" (BASF). Les nombres au-dessus des pics indiquent la taille du fragment d'ADN correspondant.

Figure 3 : Electrophorégramme représentant une séparation identique à celle de la figure 1, dans un capillaire préalablement traité pendant 2 heures par une solution aqueuse à 3% de polymère en peigne du type à squelette hydroxyéthylcellulose, porteur de chaînes latérales du type courtes chaînes alkyles (NATROSOL PLUS 331, Aqualon). Les nombres au-dessus des pics indiquent la taille du fragment d'ADN correspondant.

Figure 4 : Electrophorégramme représentant une séparation identique à celle de la figure 1, dans un capillaire préalablement traité pendant 2 heures mn par une solution aqueuse à 3% du copolymère selon l'invention

"PDMA-NIPAM" décrit dans l'exemple 2. Les nombres au-dessus des pics indiquent la taille du fragment d'ADN correspondant.

Figure 5 : Electrophorégramme représentant une séparation identique à celle de la figure 1 dans un capillaire non traité, avec adjonction dans le milieu de séparation de copolymère selon l'invention "PDMA-NIPAM" décrit dans l'exemple 2 à une concentration en masse de 0,5%.. Les nombres au-dessus des pics indiquent la taille du fragment d'ADN correspondant.

Figures 6 : Electrophorégramme représentant une séparation identique à celle de la figure 2,

10 6a/ avec adjonction dans le milieu de séparation de polymère "PAM-PDMA-" décrit dans l'exemple 4 à une concentration en masse de 0,5%; Les nombres au-dessus des pics indiquent la taille du fragment d'ADN correspondant.

15 6b/ après traitement pendant 2 heures du capillaire avec une solution aqueuse à 3% du polymère PAM-PDMA décrit dans l'exemple 4. Les nombres au-dessus des pics indiquent la taille du fragment d'ADN correspondant.

Figure 7 : Comparaison de la résolution calculée entre pics différant d'une base à 500 bases, obtenus à 50°C dans un appareil ABI 310 (Perkin-Elmer), utilisant comme milieu de séparation un tampon 100 mM Na TAPS, 2 mM EDTA, 7 M Urée, dans lequel est dissous 5% d'acrylamide linéaire (Masse moléculaire 700 000 ~ 1 000 000), dans un capillaire initialement non traité ("sans traitement"), et après traitement préalable du capillaire par une solution aqueuse à 3 % des différents polymères F127, Natrosol Plus, "PDAM-NIPAM" décrit dans l'exemple 2 et PAM-PDMA-1 décrit dans l'exemple 4.

Figure 8 : Comparaison de la résolution suivant le nombre de paires de bases pour la séparation d'un "50-500bp sizer" (Pharmacia-Amersham), dans une solution à 5% de polymacrylamide linéaire ne présentant pas de propriétés de traitement de paroi, dans un tampon 2mM EDTA, 0.1M Taps, 7M urée, avec adjonction de 0,5% des polymères selon l'invention suivants poly(AM-PDMA)-1

(préparé selon l'exemple 4), poly(AM-PDMA)-2 (préparé selon l'exemple 8), poly (AM-PDMA)-3, (préparé selon l'exemple 9), poly(DMA-PNIPAM) (préparé selon l'exemple 2), et à titre de comparaison avec adjonction de 0.5% de d'homopolymère linéaire de PDMA

5

EXEMPLE 1 :

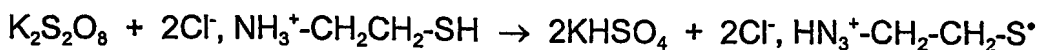
Préparation d'un macromonomère de PNIPAM fonctionnalisé de masse moléculaire moyenne voisine de 10 000 en vue de la préparation de copolymère conformes à l'invention.

10

1) Polymérisation du NIPAM

La polymérisation radicalaire du NIPAM est réalisée dans l'eau pure. L'amorceur est un couple redox dont l'oxydant est le persulfate de potassium, $K_2S_2O_8$ (KPS) et le réducteur est l'aminoéthanethiol (AET), HCl. La réaction d'amorçage est :

15



L'AET, HCl joue également le rôle d'agent de transfert, ce qui permet de contrôler la longueur des chaînes.

Mode opératoire

20

Dans un tricol de 500 ml surmonté d'un réfrigérant et équipé d'un dispositif d'arrivée d'azote, on introduit 20 g de NIPAM (0,18 mole) et 200 ml d'eau. le mélange est alors agité et chauffé à 29° C par un bain d'eau. On démarre le barbotage d'azote. Au bout de 45 minutes, on ajoute 0,602 g d'AET, HCl (0,0054 mole) préalablement dissous dans 20 ml d'eau, puis 0,478 g de persulfate de potassium (KPS) dissous dans une quantité minimale d'eau. Le mélange est maintenu sous agitation durant 3 heures. La solution est ensuite concentrée puis lyophilisée.

25

Pour isoler le polymère on réalise une précipitation selon la procédure suivante :

30

Le solide obtenu est redissout dans 100 ml de méthanol. Le chlorhydrate présent est neutralisé par addition de 0,0054 mole de KOH (soit 0,302 g

dissous dans environ 25 ml de méthanol) incorporés goutte à goutte dans la solution. Le sel formé, KCl, précipite et est extrait par filtration. Le filtrat ainsi récupéré est concentré puis versé goutte à goutte dans 4 litres d'éther. Le polymère précipite et est récupéré par filtration sur fritté n° 4. Le solide est
 5 ensuite séché sous vide de pompe à palettes. Le rendement massique est de l'ordre de 50 %.

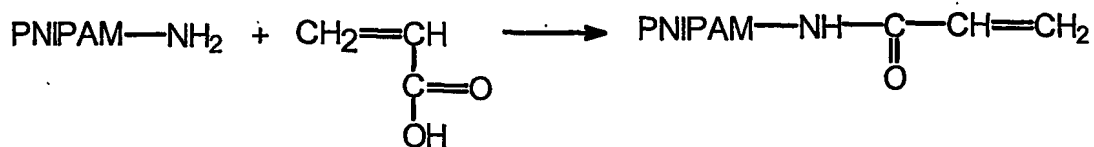
Le protocole ci-dessus conduit à un polymère aminé dénommé " PNIPAM-A-C ", et correspond à des rapports amorceur-monomère $R_o=0,03$ et $A_o=0,01$, où:

10 $R_o = [R-SH] / [NIPAM]$ et $A_o = [KPS] / [NIPAM]$.

2) Modification du PNIPAM aminé, PNIPAM-A-C

Les macromolécules de PNIPAM synthétisées présentent des fonctions amines en bout de chaînes, celles-ci provenant de l'amorceur aminoéthanethiol
 15 AET,HCl.

Par réaction de la fonction amine sur l'acide acrylique, on fixe une double liaison vinylique à l'extrémité de la chaîne selon le schéma réactionnel suivant :



20

Mode opératoire :

Dans un bécher de 100 ml, on introduit 50 ml de chlorure de méthylène, 1,5 g d'acide acrylique (0,021 mole), 9 g de PNIPAM et 4,3 g de
 25 dicyclohexylcarbodiimide (DCCI) (0,021 mole).

Le milieu réactionnel est agité pendant une heure. L'acide acrylique étant en fort excès par rapport au PNIPAM (la quantité d'acide acrylique est environ vingt fois celle du PNIPAM), l'ensemble des fonctions aminées a été

modifié. Le mélange est ensuite filtré sur fritté n° 4 pour éliminer le précipité dicyclohexylurée, sous-produit résultant de la transformation du DCCI.

Le mélange est ensuite concentré jusqu'à 15 ml puis versé goutte à goutte dans 200 ml d'éther pour précipiter le polymère. On filtre sur fritté n° 4 et
 5 on lave le solide avec trois fois 100 ml d'éther puis on le sèche sous vide de la pompe à palettes pendant une nuit.

On obtient ainsi un macromonomère PNIPAM-C porteur d'une fonction allyle en bout de chaîne, avec un rendement massique de l'ordre de 70%.

Les masses molaires des macromonomères ainsi préparés ont été
 10 mesurées par SEC (chromatographie d'exclusion stérique) dans le THF à 40°C, avec colonne ultrastyrigel, double détection réfractométrique et étalonnage universel par rapport à des échantillons de polystyrène. NB: J'ai simplifié ici

D'autres macromonomères (NIPAM) ont été préparés selon ce
 15 protocole. Ils sont répertoriés dans le tableau I ci-après et sont caractérisés en termes de polymolécularité et poids moléculaires au niveau de chacun des deux types de segments et en poids.

Ces résultats montrent qu'il est possible de faire varier la masse
 moléculaire moyenne des macromonomères en variant la température de
 20 polymérisation, et le rapport amorceur/polymère R_o , les rapports R_o les plus élevés conduisant aux masses moléculaires les plus faibles. Ils montrent également que les polymolécularités des macromonomères sont élevées, en général supérieures à 2.

TABLEAU 1

| Masse moléculaire | PNIPAM-C | PNIPAM-5 | PNIPAM-M | PNIPAM-10 | PNIPAM-L | PNIPAM-20 |
|--|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|------------------|-----------------|
| Conditions de préparation | Ro=0,03 23°C | Ro=0,025 23°C | Ro=0,02 25°C | Ro=0,02 29°C | Ro=0,015 25°C | Ro=0,01 25°C |
| Mw (g/mol) | 10800 | 12800 | 15800 | 20400 | 23000 | 34000 |
| Nombre moyen d'atomes le long de la chaîne | 200 | 230 | 290 | 370 | 420 | 620 |
| Polymolécularité (Mw/Mn) | 5,7 | 2,0 | 4,2 | 3,2 | 4,9 | 5 |

EXEMPLE 2 :

Préparation d'un copolymère PDMA-NIPAM, à structure peigne et comprenant à titre de segments dénués d'affinité significative avec la paroi le PNIPAM-C préparé en exemple 1, et à titre de squelette manifestant une
 5 affinité avec la paroi, le poly N,N Diméthyl acrylamide (PDMA).

La copolymérisation du PNIPAM-C (0.7g) et du DMA (2;8g) est réalisée pendant 4h dans 30 ml d'eau à température ambiante, avec un dégazage énergétique à l'argon. L'amorceur utilisé est le couple redox persulfate
 10 d'ammonium ($(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$) (0,1% en mole de la quantité de monomères) - métabisulfite de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) (0,03% en mole de la quantité de monomères). Le copolymère résultant est purifié par ultrafiltration dans un "Minitan millipore®", équipé d'une membrane à seuil de coupure 30 000, puis lyophilisé. Le taux d'incorporation final de PNIPAM 10, mesuré par RMN du
 15 proton sur les polymères dilués à 2g/100ml dans l'eau lourde (appareils Bruker à 250 MHz) est de 6,5%. La masse moléculaire, mesurée dans l'eau à 25°C par chromatographie d'exclusion stérique sur colonne "Shodex®" avec double-détection réfractométrique et diffusion de lumière bi-angles (Precision Detector), est de $M_w = 3\,000\,000$, et la polymolécularité de 2. De ces valeurs et
 20 de la masse moléculaire du PNIPAM-C, on déduit le nombre moyen de branches latérales le long du squelette, de l'ordre de 18.

En raison du mode de polymérisation radicalaire utilisé, les macromonomères constituant les chaînes latérales sont intégrés dans la chaîne polymérique à des positions aléatoires déterminées par le hasard des
 25 collisions entre molécules (distribution statistique). Ce mode de polymérisation conduit à une distribution des masses moléculaires des segments polymériques du squelette compris entre deux branches latérales de forme approximativement exponentielle, et donc à des polymolécularités desdits segments polymériques du squelette largement supérieures à 1,8.

EXEMPLE 3 :

Préparation d'un macromonomère de type PDMA porteur d'une fonction acrylique à une extrémité : la réaction est effectuée selon le même protocole
 5 que pour l'exemple 1, en remplaçant une mole de NIPAM par une mole de DMA. La purification est effectuée par précipitation dans l'éther puis filtration.

EXEMPLE 4 :

Préparation de copolymère "PAM-PDMA-1", à squelette acrylamide
 10 sans interactions avec la paroi et greffons pDMA présentant une forte affinité avec les parois de silice.

La copolymérisation des macromonomères pDMA préparés dans l'exemple 3 (0.7g) et de l'acrylamide (2.8g) est réalisée pendant 4h dans 30 ml d'eau à température ambiante, avec un dégazage énergique à l'argon.
 15 L'amorceur utilisé est le couple redox persulfate d'ammonium ($(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$) (0,1% en mole de la quantité de monomères) - métabisulfite de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) (0,03% en mole de la quantité de monomères). Le copolymère résultant est purifié par ultrafiltration dans un "Minitan millipore®", équipé d'une membrane à seuil de coupure 30 000, puis lyophilisé. La masse moléculaire,
 20 mesurée par chromatographie d'exclusion (conditions identiques à l'exemple 2) est $M_w = 813$ kDa, et la polymolécularité est 2.2. La proportion en masse de pDMA, mesurée par RMN, est de 6,5%, ce qui correspond en moyenne à 5 branches latérales le long du squelette. Comme dans l'exemple 2, le mode de polymérisation radicalaire utilisé conduit à une polymolécularité élevée des
 25 segments polymériques du squelette compris entre deux branches latérales.

EXEMPLE 5 :

Propriétés de séparation obtenues pour l'ADN (sizer 50-500 bp, Pharmacia biotech), sans et avec traitement du capillaire de silice par les
 30 copolymères préparés selon l'exemples 2:

Les électrophorégrammes sont obtenus à 50°C dans un appareil ABI 310® (Perkin-Elmer, dans un tampon 50 mM Na TAPS, 2 mM EDTA, 7 M Urée,

a) Dans l'acrylamide sans prétraitement du capillaire (figure 1)

b) Dans l'acrylamide après traitement du capillaire par un copolymère tribloc commercial "pluronic F127", BASF (Figure 2)

c/ Dans l'acrylamide après traitement du capillaire par un copolymère commercial en peigne à squelette d' hydroxyéthylcellulose porteur de fonctions alkyl à courtes chaînes (Natrosol Plus 331, Aqualon) (figure 3)

b) Dans l'acrylamide après traitement par le copolymère PDMA-NIPAM préparé selon l'exemple 2 (figure 4).

e/ Dans l'acrylamide avec adjonction de 0.5 % du copolymère PDMA-NIPAM préparé selon l'exemple 2, dans le milieu de séparation.(Fig. 5)

On constate que l'utilisation de copolymères selon l'invention améliore considérablement la finesse des pics, que ce soit sous la forme de traitement du capillaire avant séparation (Fig. 3 et 4), ou sous la forme d'additif dans le milieu de séparation lui-même (Fig. 5). Cette augmentation, très marquée vis à vis du capillaire non traité (Figure 1), est également significative par rapport à un capillaire traité avec un copolymère bloc commercial qui ne présente pas le nombre minimum de segments polymériques qui caractérise l'invention (figure 2). Enfin, on note également que les copolymères présentant des branches latérales de forte masse moléculaire et de longueur irrégulière (figure 4 et 5), conduisent à de meilleures séparations que ceux présentant des branches de masse moléculaire faible et monodisperse (Fig. 3).

La figure 7 représente la résolution extrapolée entre pics différant d'une base, évaluée par interpolation à partir des résultats du "Sizer 500". On constate à nouveau que cette résolution est améliorée par les polymères selon l'invention.

EXEMPLE 6:

Propriétés de séparation obtenues pour l'ADN (sizer 50-500 bp, Pharmacia biotech), à 50°C dans un appareil ABI 310 (Perkin-Elmer, dans un tampon 50 mM Na TAPS, 2 mM EDTA, 7 M Urée.

5 Ces propriétés sont évaluées selon deux variantes :

a) Dans l'acrylamide avec adjonction de 0.5 % du copolymère PAM-PDMA-1 préparé selon l'exemple 4, dans le milieu de séparation. (Fig. 6a) .

b) Dans l'acrylamide après traitement par le copolymère PAM-PDMA -1 préparé selon l'exemple 4 (figure 6b).

10

Par rapport à la figure 1, on constate à nouveau que l'utilisation de cet autre copolymère selon l'invention améliore considérablement la finesse des pics, que ce soit sous forme de traitement du capillaire avant séparation, ou sous forme d'additif dans le milieu de séparation lui-même. On retrouve cette

15 augmentation des performances dans la mesure de la résolution, figure 7.

Cette finesse des pics est attribuée à la propriété des procédés selon l'invention, qui permettent de réduire l'interaction des analytes avec la paroi. On attribue les meilleures performances obtenues avec les copolymères présentant des segments polymériques de masse moléculaire élevée et

20 irrégulière, à la formation d'une couche adsorbée épaisse et "souple": Une telle couche permettrait de repousser les analytes de la paroi, tout en restant très gonflée d'eau et donc peu susceptible de donner avec ceux-ci des interactions spécifiques.

25

EXEMPLE 7:

Utilisation d'une solution de traitement de surface selon l'invention en cellule microfluidique.

Une cellule microfluidique comportant un canal d'épaisseur 20 µm et de largeur 100 µm est préparée avec du poly-diméthyl-siloxane, comme décrit

30 dans Ocirk et coll., Electrophoresis, 21, 107 (2000). Les parois du canal sont traités par incubation pendant 30 mn a/ avec une solution à 3% de "Pluronic

F127", et b/ avec une solution à 3 % de polymères selon l'invention PDMA-NIPAM, préparé selon l'exemple 2. Dans les deux cas, le canal est rincé, puis rempli avec une solution de particules magnétiques et soumis à un champ magnétique de 60 mTestla, comme décrit dans Mayer et coll., Mat. Res. Soc. Symp. Proc. 463, 57 (1998). La présence d'électroosmose est testée par la mise en mouvement des particules magnétiques, dans un champ électrique de 20 V/cm. Pour le capillaire traité avec le Pluronic, ce déplacement apparaît après 2 à 3 mn d'application du champ. Pour le capillaire traité avec le polymère selon l'invention, il n'y a toujours pas de déplacement observable après 3 heures d'application du champ. Les additifs copolymères selon l'invention donnent ainsi le moyen de mieux contrôler le transport d'un fluide ou d'espèces contenues dans ce fluide, dans des canaux microfluidiques de nature variée.

15 EXEMPLE 8 : Préparation d'un copolymère P(AM-PDMA)-2 à squelette acrylamide et greffons PDMA, de masse moléculaire environs 3000 kDalton.

La préparation est identique à celle décrite dans l'exemple 4, à l'exception de la concentration en $((\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8)$ [0.1 % au lieu de 0,075%, en mole de la quantité de monomères] et en $(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5)$ (0,015% au lieu de 0,0225%, en mole de la quantité de monomères). La viscosité, présentée dans la figure 6, permet d'évaluer la masse moléculaire, de l'ordre de 3000 kDalton, à partir de celle du p(AM-PDMA)-1, en utilisant la dépendance cubique de la viscosité en fonction de la masse moléculaire pour des polymères enchevêtrés.

25

EXEMPLE 9: Préparation d'un copolymère P(AM-PDMA)-3 porteur de greffons PDMA de masse moléculaire environs 30 000.

Dans un premier temps, le macromonomère de masse moléculaire 30 000 est préparé comme décrit dans l'exemple 3, à l'exception du rapport R_0 , fixé à 0,015 au lieu de 0,03. Ce macromonomère est ensuite polymérisé avec de l'acrylamide, selon le protocole décrit dans l'exemple 9.

30

EXEMPLE 10 : Evaluation des performances de milieux de séparation incorporant un copolymère conforme à la présente invention.

Les polymères ajoutés à raison de 0,5% sont :

- 5 - le poly(AM-PDMA)-1 préparé selon l'exemple 4,
- le poly(AM-PDMA)-2 préparé selon l'exemple 8,
- le poly(AM-PDMA)-3 préparé selon l'exemple 9,
- le poly(DMA-PNIPAM) préparé selon l'exemple 2, et
- l'homopolymère linéaire de PDMA qui représente l'essai comparatif.

10 Les résultats obtenus sont illustrés en figure 8.

On constate que les copolymères selon l'invention donnent lieu à des performances comparables ou supérieures à celles du PDMA homopolymères, malgré une fraction bien inférieure en monomères présentant une affinité forte pour la paroi. On constate également que les polymères de plus forte masse moléculaire (poly(AM-PDMA)-2), ainsi que ceux dont les greffons sont de plus forte masse moléculaire (poly(AM-PDMA)-3), conduisent la meilleure résolution. Au contraire, le polymère plus hydrophobe (poly(PDMA-NIPAM) conduit à la moins bonne résolution. Dans le cas particulier du poly(AM-PDMA)-2, 10 essais consécutifs ont été effectués sans régénération intermédiaire des parois du canal.

Avantageusement, on n'observe aucune diminution des performances.

Il est important de noter que l'homopolymère linéaire PDMA ne permet pas d'obtenir de tels résultats.

REVENDEICATIONS

1. La présente invention a pour objet une solution de traitement de surface d'un élément destiné à être mis en contact avec un fluide et/ou des
5 espèces contenues dans ce fluide lors du transport, de l'analyse, de la purification, de la séparation ou de la conservation dudit fluide, caractérisée en ce que ladite solution comprend au moins un polymère composé de plusieurs segments polymériques, ledit polymère étant du type copolymère-bloc ou polymère en peigne et présentant en moyenne au moins trois points de jonction
10 entre des segments polymériques de nature chimique ou topologique différente.

2. Solution de traitement de surface selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'ensemble des segments d'au moins un type de nature
15 chimique ou topologique entrant dans la composition dudit polymère présente une polymolécularité d'au moins 1,5.

3. Solution de traitement de surface selon la revendication 2, caractérisée en ce que les segments de chacun des types de nature chimique
20 ou topologique entrant dans la composition du polymère, présentent une polymolécularité d'au moins 1,5.

4. Solution de traitement de surface selon la revendication 2 ou 3, caractérisée en ce que la polymolécularité est supérieure à 1,8.
25

5. Solution de traitement de surface selon l'une des revendications précédentes, caractérisée en ce que ledit polymère a une masse moléculaire moyenne supérieure à 50 000, et de préférence supérieure à 300 000.

30 6. Solution de traitement de surface selon l'une des revendications précédentes, caractérisée en ce que l'ensemble des segments polymériques

d'au moins un type de nature chimique ou topologique possèdent en moyenne un nombre d'atomes supérieur à 75, et de préférence supérieur à 210, ou présentent une masse moléculaire supérieure à 1500 et de préférence supérieure à 4500.

5

7. Solution de traitement de surface selon la revendication 6, caractérisée en ce que les différents types de segments polymériques composant ledit polymère possèdent en moyenne un nombre moyen d'atomes supérieur à 75, et de préférence encore supérieur à 210, ou présentent une
10 masse moléculaire supérieure à 1500, et de préférence supérieure à 4500.

8. Solution de traitement de surface selon l'une des revendications précédentes, caractérisée en ce que ledit polymère possède au moins un type de segments polymériques manifestant au sein du milieu de séparation une
15 affinité spécifique avec la paroi et au moins un type de segments polymériques présentant dans ledit milieu moins ou pas d'affinité avec la paroi.

9. Solution de traitement de surface selon l'une des revendications précédentes, caractérisée en ce que l'ensemble des segments présentant une
20 affinité spécifique avec la paroi représente entre 2 et 80 % en masse de la masse molaire totale moyenne dudit polymère.

10. Solution de traitement de surface selon la revendication 9, caractérisée en ce que l'ensemble des segments présentant une affinité
25 spécifique avec la paroi représente entre 2 et 25 % en masse de la masse molaire totale moyenne dudit polymère.

11. Solution de traitement de surface selon l'une des revendications précédentes, caractérisée en ce que le polymère possède en moyenne un
30 nombre de points de jonction compris entre 4 et 100, et de préférence compris entre 4 et 40.

12. Solution de traitement de surface selon l'une des revendications précédentes, caractérisée en ce que le polymère est un copolymère bloc présentant en moyenne au moins quatre segments polymériques.

5 13. Solution de traitement de surface selon l'une des revendications 1 à 11, caractérisée en ce que le polymère est un polymère en peigne présentant en moyenne au moins deux chaînes latérales.

10 14. Solution de traitement de surface selon la revendication 13, caractérisée en ce que le polymère est un copolymère en peigne dont le squelette est constitué par plusieurs segments polymériques présentant une affinité spécifique avec la paroi, et dont les branches latérales sont constituées de segments polymériques présentant une affinité moindre ou nulle pour la paroi.

15 15. Solution de traitement de surface selon la revendication 13, caractérisée en ce que le polymère est un copolymère en peigne dont les branches latérales sont constituées par des segments polymériques présentant une affinité spécifique pour la paroi, et dont le squelette est constitué par des
20 segments polymériques présentant une affinité moindre ou nulle pour la paroi.

16. Solution de traitement de surface selon l'une des revendications précédentes, caractérisée en ce que le polymère comprend au moins un type de segment choisi parmi les polyéthers, polyesters comme l'acide
25 polyglycolique, les homopolymères et copolymères statistiques solubles du type polyoxyalkylène comme le polyoxypropylène, polyoxybutylène, polyoxyéthylène, les polysaccharides, l'alcool polyvinylique, la polyvinylpyrrolidone, les polyuréthanes, les polyamides, les polysulfonamides, les polysulfoxydes, la polyoxazoline, le polystyrènesulfonate, les polymères et
30 copolymères d'acrylamides, de méthacrylamides et d'allyles, substitués ou non,

les polymères et copolymères porteurs de fonctions époxy, amine, thiol ou acide carboxylique.

17. Solution de traitement de surface selon l'une des revendications
5 précédentes, caractérisée en ce que ledit polymère est choisi parmi :

- les copolymères du type copolymère en peigne dont le squelette est de type dextrane, acrylamide, acide acrylique, acryloylaminoéthanol ou (N,N-diméthylacrylamide et au niveau duquel sont greffés des segments latéraux de type acrylamide, acrylamide substitué, (N,N-diméthylacrylamide (DMA), N-
10 isopropyl-acrylamide ou du type copolymère de DMA et d'allylglycidylether (AGE), ou d'homopolymère ou de copolymère d'oxazoline ou de dérivés de l'oxazoline ;

- les copolymères du type copolymère séquencé et présentant le long de leur squelette une alternance de segments de type polyoxyéthylène et de
15 segments de type polyoxypropylène, ou une alternance de segments de type polyoxyéthylène et de segments de type polyoxybutylène ou une alternance de segments de polyéthylène et de segments de type polyéther plus hydrophobes que le polyoxyéthylène ;

- les copolymères du type copolymère bloc séquencé et présentant le
20 long de leur squelette une alternance de segments de type acrylamide, acide acrylique, acryloylaminoéthanol ou diméthylacrylamide d'une part, et de segments de type (N,N)-diméthylacrylamide (DMA), ou du type copolymère de DMA et d'allylglycidylether (AGE), ou d'homopolymère ou de copolymère d'oxazoline ou de dérivés de l'oxazoline ;

25 - les polymères du type polymère en peigne dont le squelette est de type polymère d'agarose, d'acrylamide, d'acrylamide substitué, d'acide acrylique, d'acryloylaminoéthanol, de diméthylacrylamide (DMA), d'allylglycidylether (AGE), de copolymère statistique de DMA et d'AGE, d'oxazoline de dérivés de l'oxazoline, de dextrane, de méthylcellulose, d'hydroxyéthylcellulose, de
30 celluloses modifiées, de polysaccharides, d'éther-oxydes, et au niveau duquel sont greffés des segments latéraux de type polymère d'agarose, d'acrylamide,

d'acrylamide substitué, d'acide acrylique, d'acryloylaminoéthanol, de diméthylacrylamide (DMA), de N-isopropylacrylamide, d'allylglycidylether (AGE), de copolymère statistique de DMA et d'AGE, d'oxazoline de dérivés de l'oxazoline, de dextrane, de méthylcellulose, d'hydroxyéthylcellulose, de
 5 celluloses modifiées, de polysaccharides, d'éther-oxydes

- les copolymères du type copolymère en peigne dont le squelette est de type polymère d'acrylamide, d'acrylamide substitué, d'acide acrylique, d'acryloylaminoéthanol, de diméthylacrylamide (DMA), d'allylglycidylether (AGE), de copolymère statistique de DMA et d'AGE, d'oxazoline, de dérivés de
 10 l'oxazoline, de dextrane, d'agarose, de méthylcellulose, d'hydroxyéthylcellulose, de celluloses modifiées, de polysaccharides, d'éther-oxydes, et est porteur de segments latéraux hydrophobes à courtes chaînes tels que des chaînes alkyles, des dérivés aromatiques, des fluoroalkyles, des silanes, des fluorosilanes.

15

18. Solution de traitement selon l'une des revendications précédentes, caractérisée en ce que le polymère comprend en outre des segments présentant une affinité pour des espèces à séparer au sein d'un fluide.

20

19. Solution de traitement de surface selon l'une des revendications précédentes, caractérisée en ce que ledit polymère se lie aux surfaces solides par une ou plusieurs liaisons covalentes.

20. Solution de traitement de surface selon l'une des revendications
 25 précédentes, caractérisée en ce que ledit polymère se lie aux surfaces solides uniquement par adsorption physique.

21. Solution selon l'une des revendications précédentes, caractérisée en ce que ledit polymère est présent dans ladite solution à une concentration
 30 comprise entre 0,01% et 20% en poids.

22. Procédé de traitement de surface d'un élément destiné à être mis en contact avec un fluide et/ou des espèces contenues dans ce fluide lors du transport, de l'analyse, de la purification, de la séparation ou de la conservation dudit fluide, comprenant la mise en contact dudit élément avec au moins un polymère non réticulé, de type copolymère-bloc ou polymère en peigne et présentant en moyenne au moins trois points de jonction entre des segments polymériques de nature chimique ou topologique différente.

23. Procédé selon la revendication 22, caractérisé en ce que le polymère est mis en œuvre sous la forme d'une solution.

24. Procédé selon la revendication 23 caractérisé en ce que le polymère est mis en œuvre sous la forme d'une solution aqueuse contenant ledit polymère selon l'invention à une concentration comprise entre 0,01% et 20% et de préférence entre 0,1 et 5% en masse.

25. Procédé selon l'une des revendications 22 à 24, caractérisé en ce que le polymère est tel que défini en revendication 2 à 21.

26. Procédé selon la revendication 23 ou 25, caractérisé en ce que la mise en contact dudit élément avec ladite solution est réalisée préalablement à son utilisation pour le transport, l'analyse, la purification, la séparation ou la conservation dudit fluide.

27. Procédé selon la revendication 22 ou 25, caractérisé en ce qu'il comprend l'introduction dudit polymère dans le fluide devant être transporté, analysé, purifié, séparé ou conservé.

28. Procédé selon l'une des revendications 22 à 27, caractérisé en ce que l'élément traité est un canal, un récipient, une ou plusieurs particules ou un élément destiné à faire partie de la paroi d'un canal ou d'un récipient.

29. Procédé de séparation, filtration, analyse et/ou purification impliquant la mise en œuvre du procédé selon l'une des revendications 22 à 28.

5 30. Élément traité à l'aide d'un procédé selon l'une des revendications 22 à 28.

31. Utilisation d'un élément selon la revendication 30 pour la séparation, la purification, la filtration ou l'analyse d'espèces choisies parmi des espèces
10 moléculaires ou macromoléculaires, des macromolécules biologiques comme les acides nucléiques (ADN, ARN, oligonucléotides), les analogues d'acides nucléiques obtenus par synthèse ou modification chimique, les protéines, les polypeptides, les glycopeptides et les polysaccharides, des molécules organiques, des macromolécules synthétiques ou des particules telles que des
15 particules minérales, de latex, des cellules ou des organelles.

32. Utilisation d'un élément selon la revendication 30 pour le séquençage de l'ADN ou pour la séparation de protéines.

20 33. Utilisation d'un élément selon la revendication 30 pour l'analyse ou la séparation d'espèces par affinité ou hybridation moléculaire.

34. Utilisation d'un élément selon la revendication 30 dans un système microfluidique.

25

35. Utilisation d'un élément selon la revendication 30 pour des applications de diagnostic, de génotypage, de criblage à haut débit, de contrôle de qualité, ou pour la détection de présence d'organismes génétiquement modifiés dans un produit.

30

36. Utilisation d'une solution selon l'une des revendications 1 à 21, pour minimiser les phénomènes d'adsorption ou d'électroosmose se manifestant au niveau de la ou des surface(s) d'un élément destiné à être mis en contact avec un fluide et/ou des espèces contenues dans ce fluide lors du transport, de l'analyse, de la purification, de la séparation ou de la conservation dudit fluide.

37. Utilisation selon la revendication 36, caractérisée en ce que le fluide est un fluide biologique, un fluide contenant ou susceptible d'être contaminé par des produits organiques ou biologiques, ou un fluide contenant ou susceptible d'être contaminé par des organismes vivants.

38. Utilisation selon la revendication 36 ou 37, caractérisée en ce que l'élément est un canal, un récipient, une ou plusieurs particules, ou un élément destiné à faire partie de la paroi d'un canal ou d'un récipient.

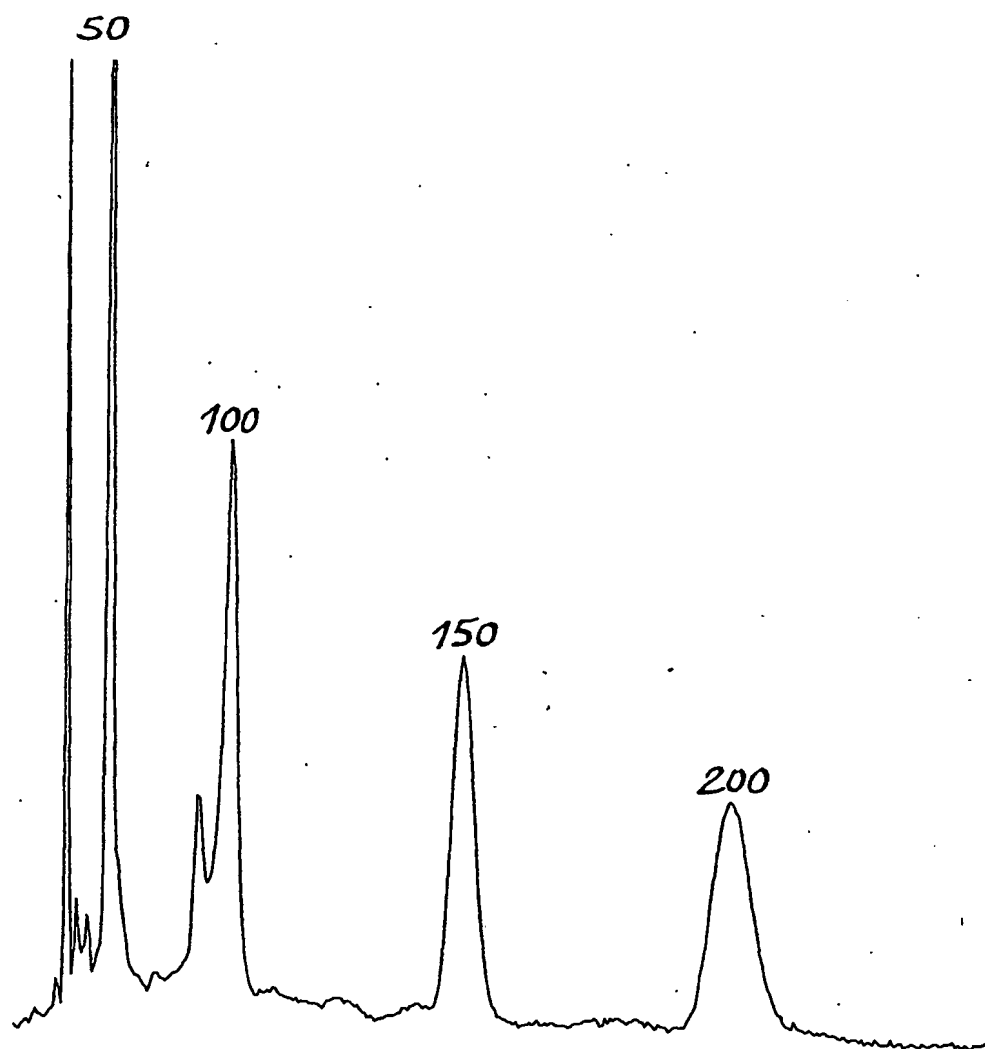


FIG.1

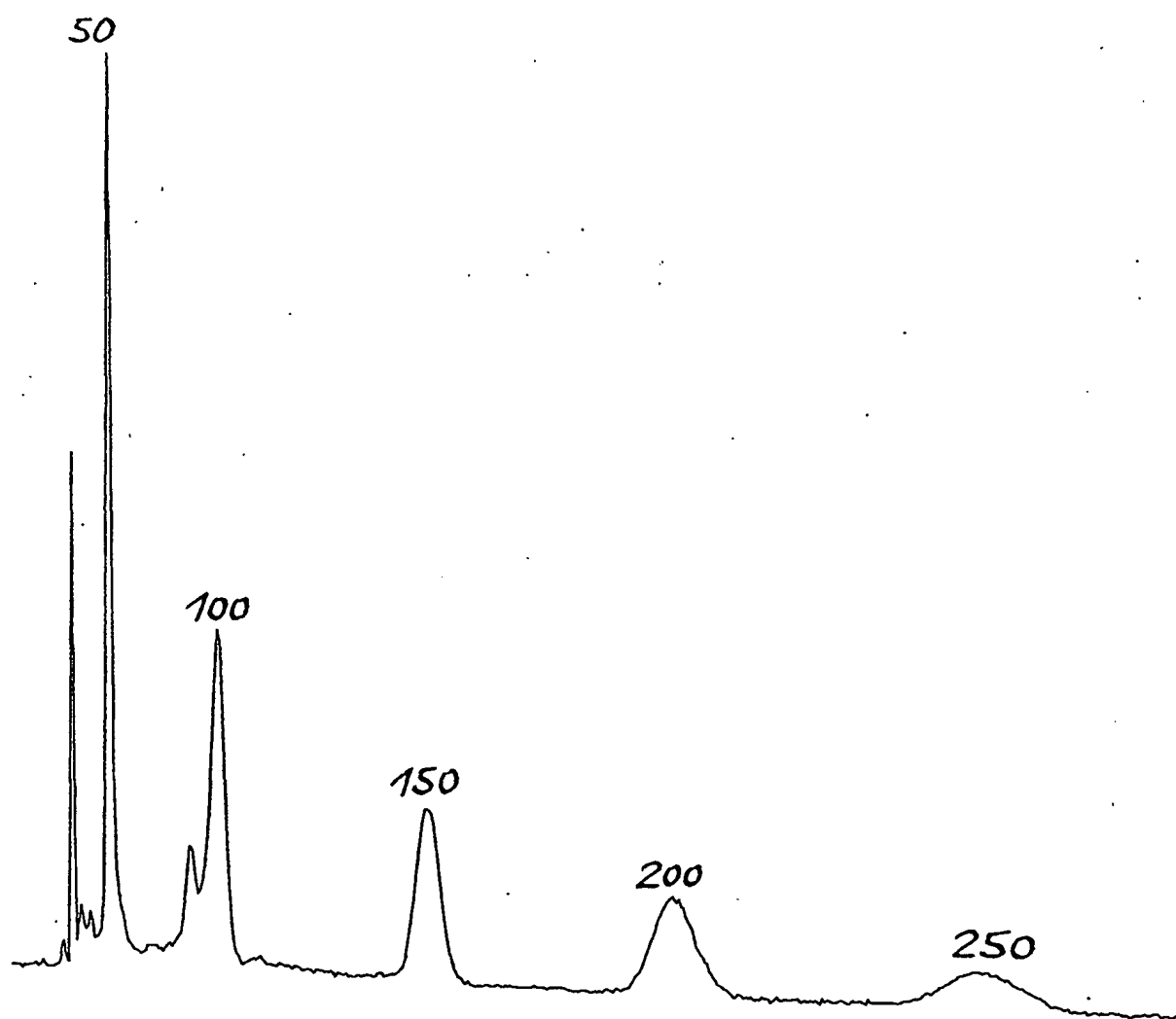
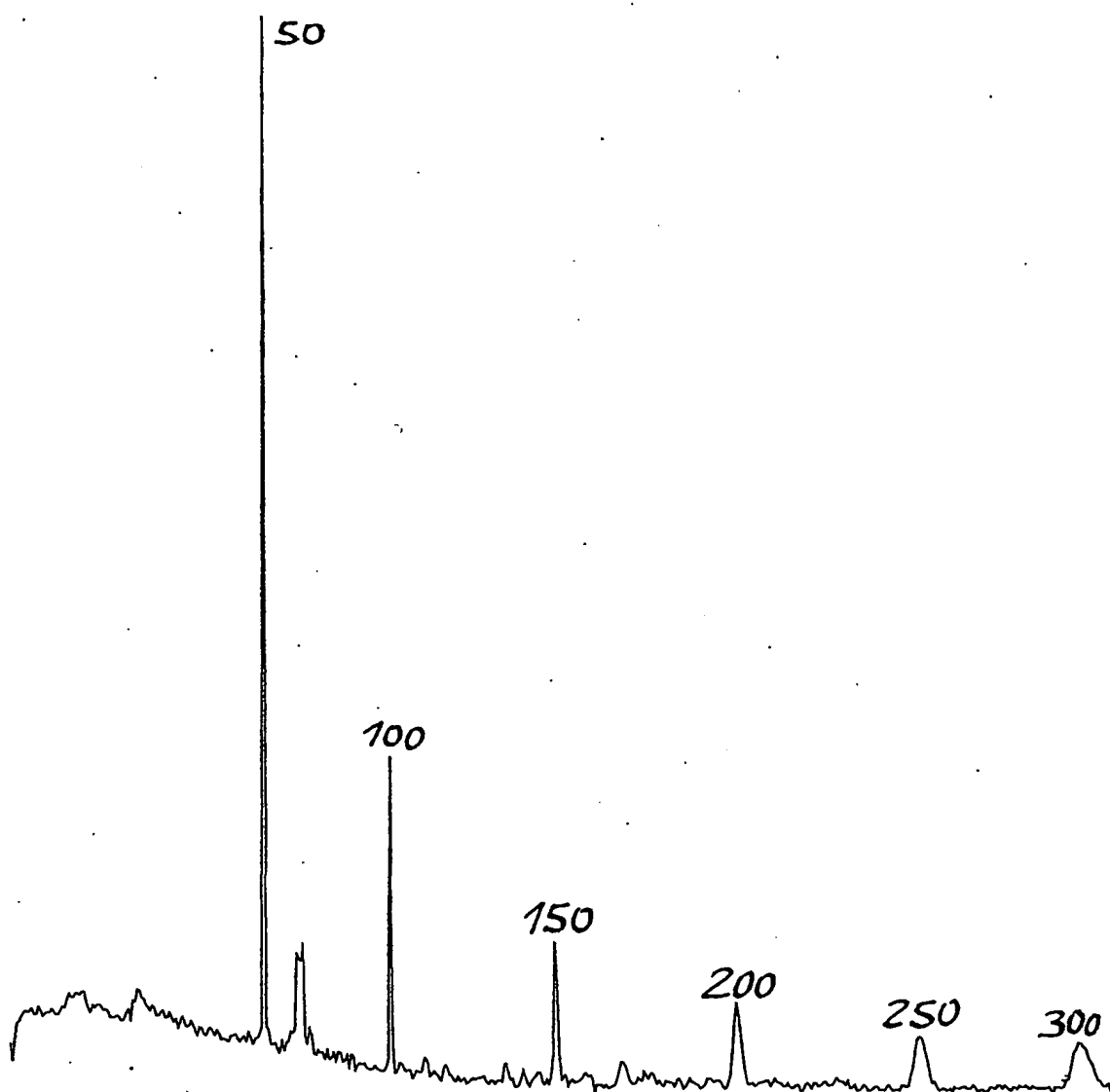
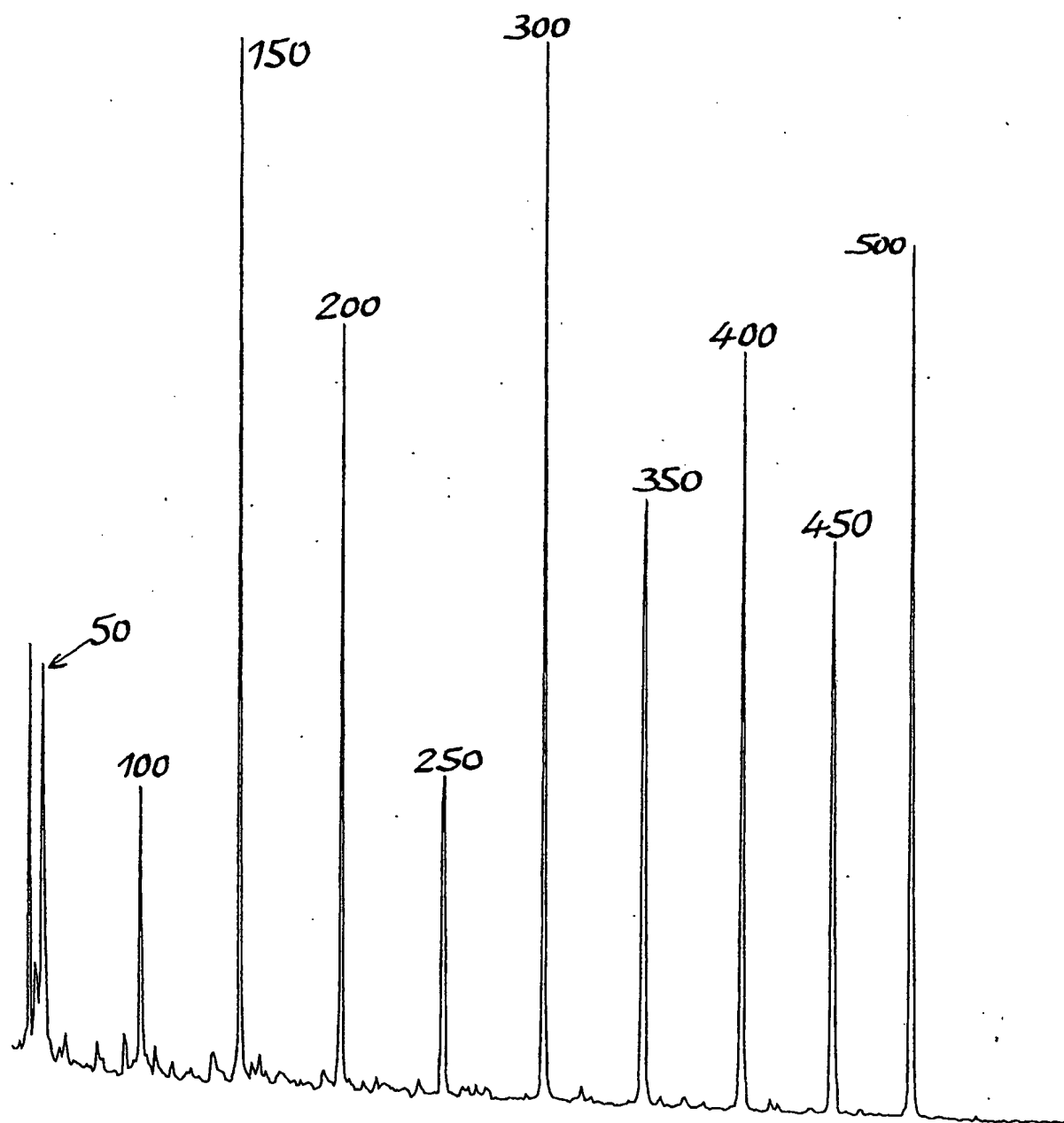
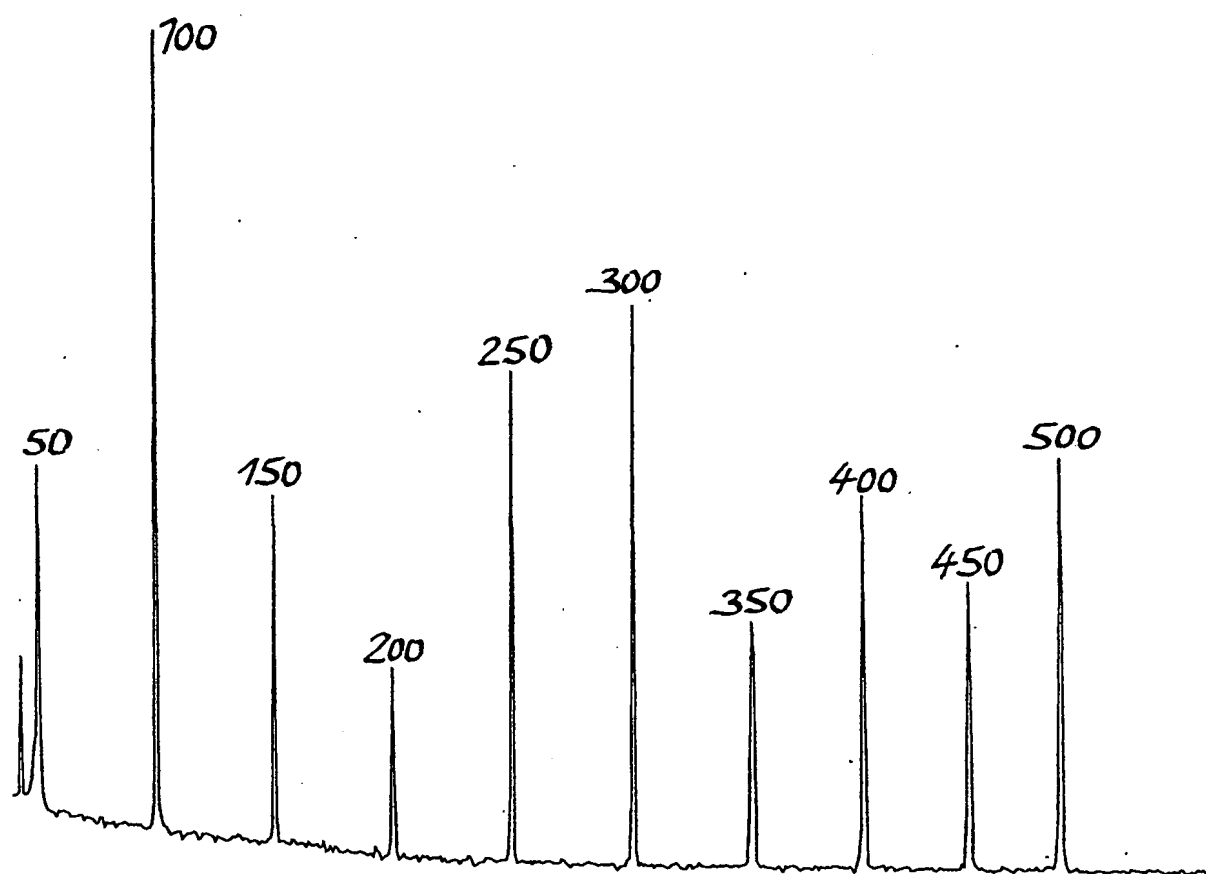
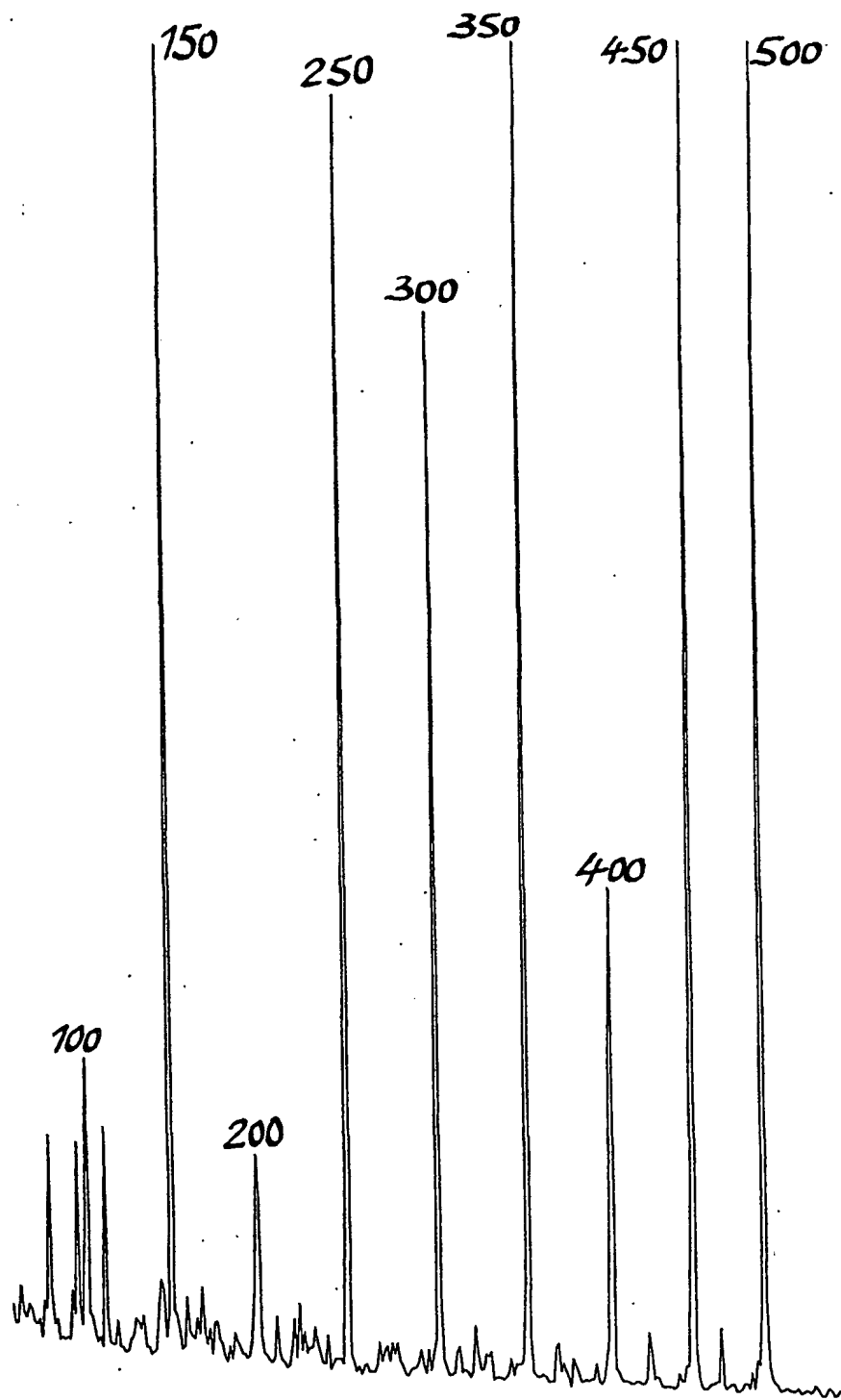


FIG.2

**FIG.3**

**FIG.4**

**FIG.5**

**FIG.6a**

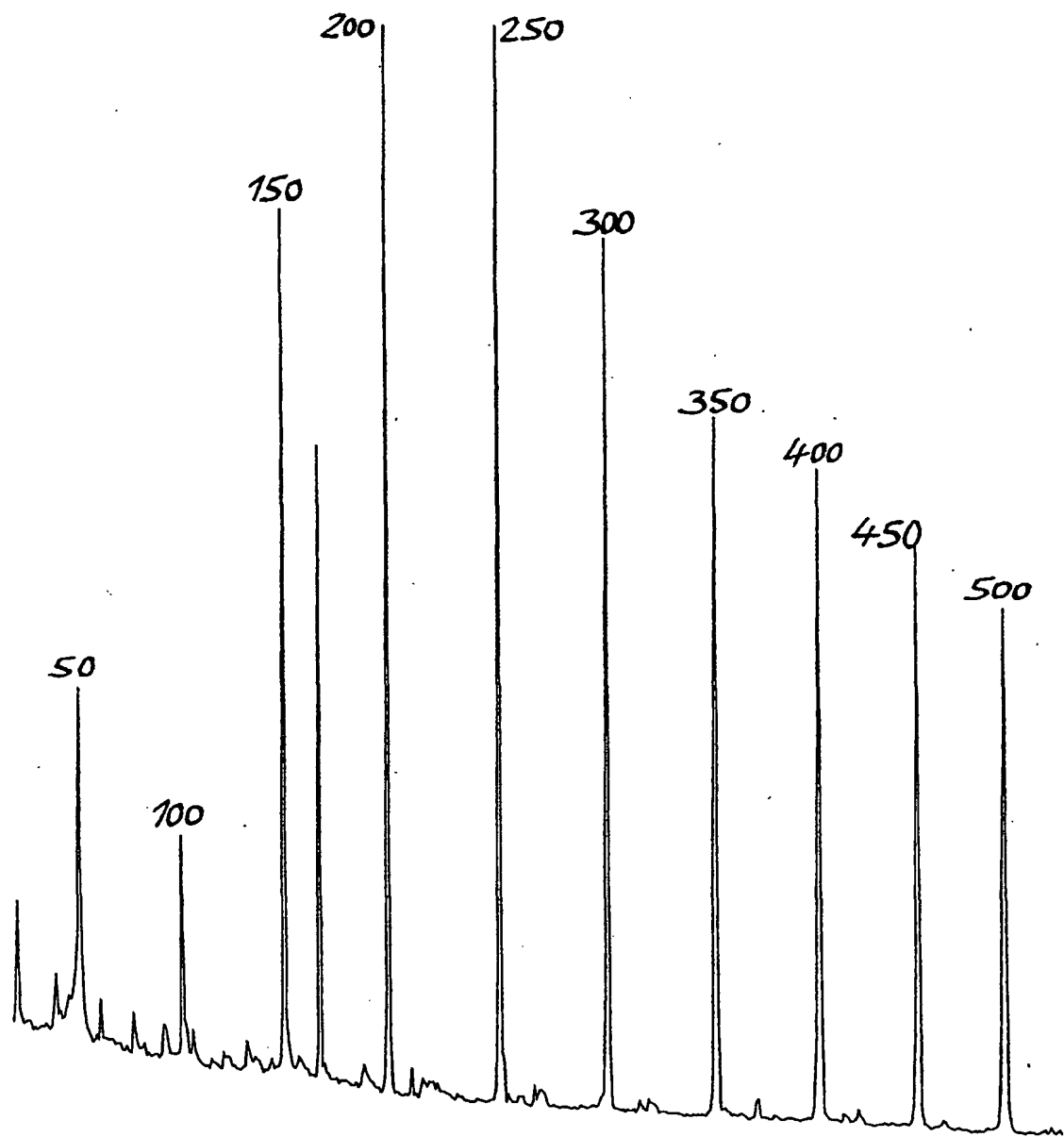


FIG.6b

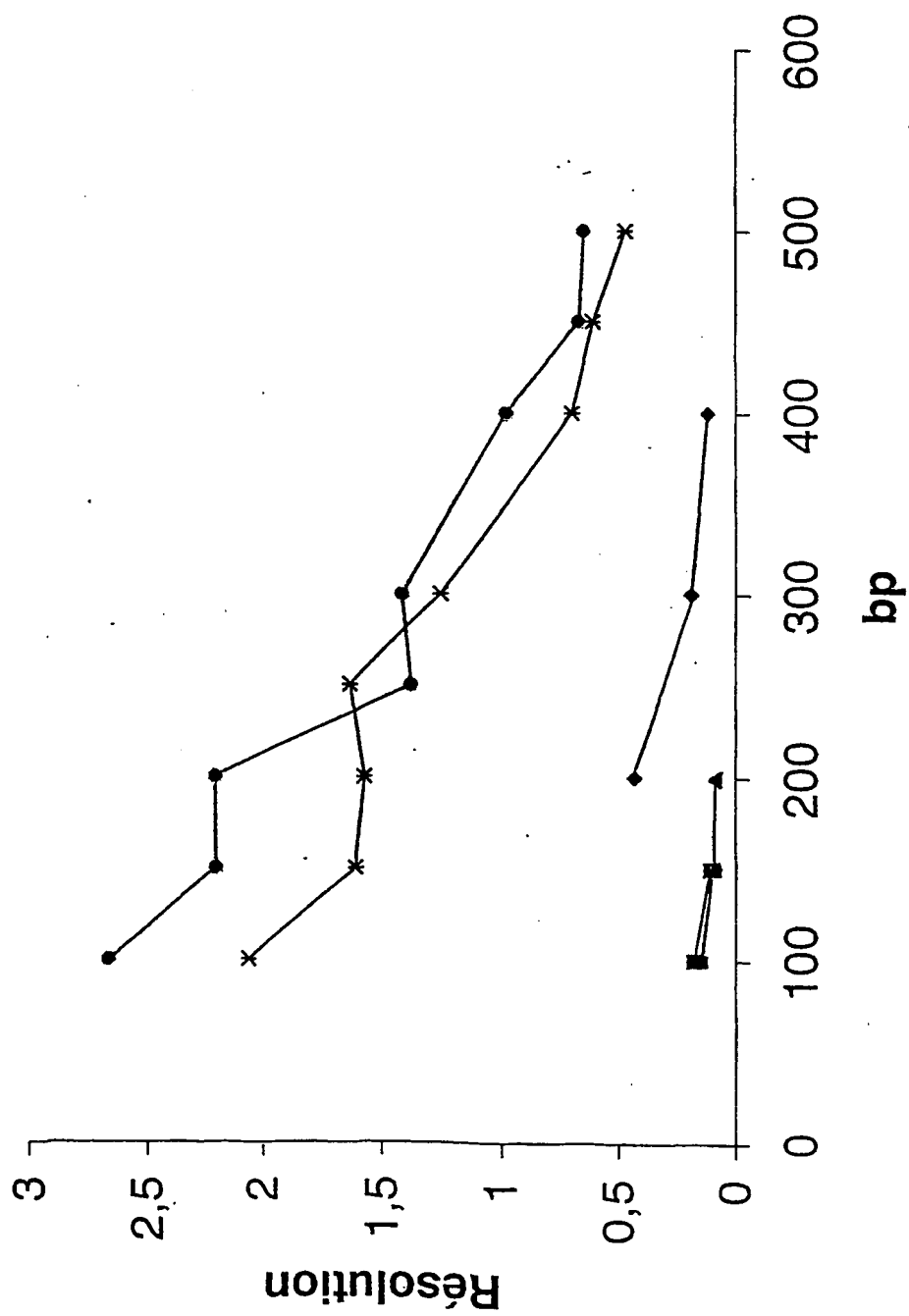
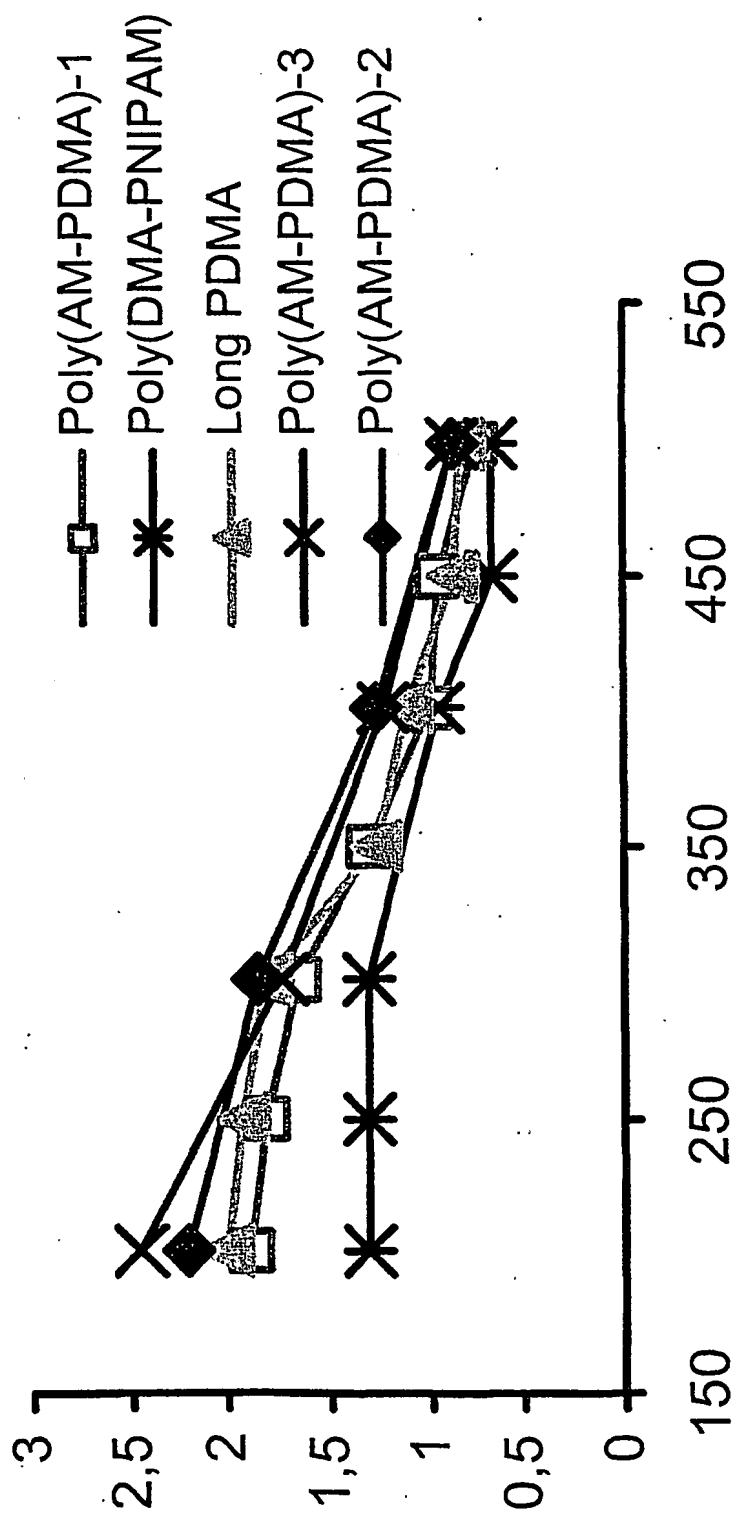


FIG.7



N (Nombre de paires de bases)

FIG.8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 01/02117

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C08F287/00 B01D57/02 G01N27/447 C08K5/00 C08F297/00
 C08F297/02 C08F251/00 C08F265/04 C08F265/10 B01J19/08

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C08F B01D G01N C08K C10M B01L B01J

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|------------|--|-----------------------|
| X | WO 98 10274 A (UNIV NEW YORK) 12 March 1998 (1998-03-12) cited in the application * revendications 3,1,2,4-15 ; page 10, ligne 8-9 ; page 6, ligne 13 - page 7, ligne 23 ; abrégé ; exemples 1-8 ; page 1, ligne 15-17 ; page 6, ligne 7-12 * page 16, ligne 4-16 | 1-12, 16-38 |
| P, X | FR 2 788 008 A (INST CURIE) 7 July 2000 (2000-07-07) * revendication 14 ; page 12, ligne 1-4 ; revendications 1-28 ; page 11, ligne 8-32 ; page 1, ligne 1 - page 24, ligne 10 ; exemples * --- -/- | 1-38 |

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

E earlier document but published on or after the international filing date

L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

Z document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

10 September 2001

Date of mailing of the international search report

20/09/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax (+31-70) 340-3018

Authorized officer

Hammond, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 01/02117

| C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
|--|---|---|
| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| X | US 4 542 200 A (NOCHUMSON SAMUEL) 17 September 1985 (1985-09-17) the whole document | 1-11, 13, 16-18, 20, 21, 23-38 |
| X | EP 0 850 963 A (NIPPON CATALYTIC CHEM IND) 1 July 1998 (1998-07-01) * revendication 23 ; page 4, ligne 9 - page 9, ligne 16 ; revendications 1-19 * abstract | 1-11, 13-25, 27, 30, 36-38 |
| X | US 5 225 491 A (YU SIMON H) 6 July 1993 (1993-07-06) * revendications 4-8 ; colonne 11, ligne 43 - colonne 12, ligne 19 ; exemples * claims 1-3 | 1-11, 13-17 |
| X | WO 98 13443 A (SHELL INT RESEARCH) 2 April 1998 (1998-04-02) * revendication 10 ; page 3, ligne 14-33 ; page 9, ligne 16-33 ; abrégé * claims 1-6 | 1-15 |
| Y | US 5 552 028 A (MADABHUSHI RAMAKRISHNA S ET AL) 3 September 1996 (1996-09-03) * abrégé ; revendications 1-5 ; exemples 1-10 * column 4, line 33 -column 10, line 33 | 1-38 |
| Y | US 4 504 641 A (NOCHUMSON SAMUEL) 12 March 1985 (1985-03-12) the whole document | 1-38 |
| A | WO 97 40078 A (SASSI ALEXANDER P ; SOANE BIOSCIENCES (US); LIN SHI (US); ALONSO AM) 30 October 1997 (1997-10-30) the whole document | 1-38 |
| A | US 4 908 405 A (BAYER ERNST ET AL) 13 March 1990 (1990-03-13) * abrégé ; colonne 1, ligne 65-68 ; colonne 2, ligne 13-18 * column 2, line 40 -column 3, line 10 | 1-38 |
| A | EP 0 087 995 A (FMC CORP) 7 September 1983 (1983-09-07) the whole document | 1-32 |
| A | EP 0 639 592 A (NIPPON CATALYTIC CHEM IND) 22 February 1995 (1995-02-22) abstract ; claims 1-19 | 1-32 |
| | -/- | |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 01/02117

| C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
|--|--|-----------------------|
| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| A | WO 97 09400 A (CHARMOT DOMINIQUE ; ADAM HERVE (FR); CORPART PASCALE (FR); RHONE PO) 13 March 1997 (1997-03-13) claims 1-9 | 1-32 |
| A | US 5 306 501 A (VIEGAS TACEY X ET AL) 26 April 1994 (1994-04-26) claims 1-20 | 1-32 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 01/02117

| Patent document cited in search report | | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|---|---|---------------------|--|--|
| WO 9810274 | A | 12-03-1998 | US 6001232 A US 5989399 A AU 4409897 A | 14-12-1999 23-11-1999 26-03-1998 |
| FR 2788008 | A | 07-07-2000 | AU 3048800 A WO 0040958 A | 24-07-2000 13-07-2000 |
| US 4542200 | A | 17-09-1985 | CA 1206666 A DE 3380450 D EP 0087995 A JP 1027383 B JP 1540623 C JP 58143261 A US 4504641 A | 24-06-1986 28-09-1989 07-09-1983 29-05-1989 31-01-1990 25-08-1983 12-03-1985 |
| EP 0850963 | A | 01-07-1998 | JP 10192891 A JP 11060652 A JP 11080288 A CN 1190659 A US 6166149 A | 28-07-1998 02-03-1999 26-03-1999 19-08-1998 26-12-2000 |
| US 5225491 | A | 06-07-1993 | US 4791189 A US 4983689 A US 5061772 A US 5120790 A US 5177151 A US 5506320 A EP 0291761 A JP 1045425 A CA 2070538 A EP 0539655 A JP 5156172 A | 13-12-1988 08-01-1991 29-10-1991 09-06-1992 05-01-1993 09-04-1996 23-11-1988 17-02-1989 29-04-1993 05-05-1993 22-06-1993 |
| WO 9813443 | A | 02-04-1998 | AU 712481 B AU 4705397 A BR 9711417 A CN 1234823 A EP 0931127 A JP 2001501653 T | 11-11-1999 17-04-1998 24-08-1999 10-11-1999 28-07-1999 06-02-2001 |
| US 5552028 | A | 03-09-1996 | US 5567292 A US 5916426 A AU 1254295 A AU 677495 B AU 1299495 A CA 2179013 A EP 0734521 A JP 9504375 T JP 3122846 B WO 9516910 A WO 9516911 A | 22-10-1996 29-06-1999 03-07-1995 24-04-1997 03-07-1995 22-06-1995 02-10-1996 28-04-1997 09-01-2001 22-06-1995 22-06-1995 |
| US 4504641 | A | 12-03-1985 | CA 1206666 A DE 3380450 D EP 0087995 A JP 1027383 B JP 1540623 C JP 58143261 A | 24-06-1986 28-09-1989 07-09-1983 29-05-1989 31-01-1990 25-08-1983 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 01/02117

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|---|---------------------|----------------------------|---------------------|
| US 4504641 A | | US 4542200 A | 17-09-1985 |
| WO 9740078 A | 30-10-1997 | US 5883211 A | 16-03-1999 |
| | | AU 3114997 A | 12-11-1997 |
| US 4908405 A | 13-03-1990 | DE 3500180 A | 10-07-1986 |
| | | AT 88195 T | 15-04-1993 |
| | | CA 1290481 A | 08-10-1991 |
| | | DE 3587269 A | 19-05-1993 |
| | | EP 0187391 A | 16-07-1986 |
| | | JP 2115556 C | 06-12-1996 |
| | | JP 8011768 B | 07-02-1996 |
| | | JP 61171712 A | 02-08-1986 |
| EP 0087995 A | 07-09-1983 | CA 1206666 A | 24-06-1986 |
| | | DE 3380450 D | 28-09-1989 |
| | | JP 1027383 B | 29-05-1989 |
| | | JP 1540623 C | 31-01-1990 |
| | | JP 58143261 A | 25-08-1983 |
| | | US 4504641 A | 12-03-1985 |
| | | US 4542200 A | 17-09-1985 |
| EP 0639592 A | 22-02-1995 | JP 2945822 B | 06-09-1999 |
| | | JP 7053645 A | 28-02-1995 |
| | | JP 7053993 A | 28-02-1995 |
| WO 9709400 A | 13-03-1997 | FR 2738573 A | 14-03-1997 |
| | | AU 6934896 A | 27-03-1997 |
| | | EP 0865477 A | 23-09-1998 |
| | | US 6124382 A | 26-09-2000 |
| US 5306501 A | 26-04-1994 | US 5593683 A | 14-01-1997 |
| | | CA 2040460 A,C | 02-11-1991 |
| | | DE 69124416 D | 13-03-1997 |
| | | DE 69124416 T | 04-09-1997 |
| | | DK 455396 T | 11-08-1997 |
| | | EP 0455396 A | 06-11-1991 |
| | | JP 2753152 B | 18-05-1998 |
| | | JP 4225914 A | 14-08-1992 |

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

PCT/FR 01/02117

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 7 C08F287/00 B01D57/02 G01N27/447 C08K5/00 C08F297/00
C08F297/02 C08F251/04 C08F265/04 C08F265/10 B01J19/08

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 C08F B01D G01N C08K C10M B01L B01J

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

| Catégorie * | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents | no. des revendications visées |
|-------------|---|-------------------------------|
| X | WO 98 10274 A (UNIV NEW YORK) 12 mars 1998 (1998-03-12) cité dans la demande * revendications 3,1,2,4-15 ; page 10, ligne 8-9 ; page 6, ligne 13 - page 7, ligne 23 ; abrégé ; exemples 1-8 ; page 1, ligne 15-17 ; page 6, ligne 7-12 * page 16, ligne 4-16 | 1-12, 16-38 |
| P, X | FR 2 788 008 A (INST CURIE) 7 juillet 2000 (2000-07-07) * revendication 14 ; page 12, ligne 1-4 ; revendications 1-28 ; page 11, ligne 8-32 ; page 1, ligne 1 - page 24, ligne 10 ; exemples * | 1-38 |

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

T document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

X document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

Y document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

Z document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

10 septembre 2001

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

20/09/2001

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Hammond, A

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

PCT/FR 01/02117

| C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS | | |
|---|--|---------------------------------------|
| Catégorie | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents | no. des revendications visées |
| X | US 4 542 200 A (NOCHUMSON SAMUEL) 17 septembre 1985 (1985-09-17) le document en entier --- | 1-11,13, 16-18, 20,21, 23-38 |
| X | EP 0 850 963 A (NIPPON CATALYTIC CHEM IND) 1 juillet 1998 (1998-07-01) * revendication 23 ; page 4, ligne 9 - page 9, ligne 16 ; revendications 1-19 * abrégé --- | 1-11, 13-25, 27,30, 36-38 |
| X | US 5 225 491 A (YU SIMON H) 6 juillet 1993 (1993-07-06) * revendications 4-8 ; colonne 11, ligne 43 - colonne 12, ligne 19 ; exemples * revendications 1-3 --- | 1-11, 13-17 |
| X | WO 98 13443 A (SHELL INT RESEARCH) 2 avril 1998 (1998-04-02) * revendication 10 ; page 3, ligne 14-33 ; page 9, ligne 16-33 ; abrégé * revendications 1-6 --- | 1-15 |
| Y | US 5 552 028 A (MADABHUSHI RAMAKRISHNA S ET AL) 3 septembre 1996 (1996-09-03) * abrégé ; revendications 1-5 ; exemples 1-10 * colonne 4, ligne 33 -colonne 10, ligne 33 --- | 1-38 |
| Y | US 4 504 641 A (NOCHUMSON SAMUEL) 12 mars 1985 (1985-03-12) le document en entier --- | 1-38 |
| A | WO 97 40078 A (SASSI ALEXANDER P ; SOANE BIOSCIENCES (US); LIN SHI (US); ALONSO AM) 30 octobre 1997 (1997-10-30) le document en entier --- | 1-38 |
| A | US 4 908 405 A (BAYER ERNST ET AL) 13 mars 1990 (1990-03-13) * abrégé ; colonne 1, ligne 65-68 ; colonne 2, ligne 13-18 * colonne 2, ligne 40 -colonne 3, ligne 10 --- | 1-38 |
| A | EP 0 087 995 A (FMC CORP) 7 septembre 1983 (1983-09-07) le document en entier --- | 1-32 |
| A | EP 0 639 592 A (NIPPON CATALYTIC CHEM IND) 22 février 1995 (1995-02-22) abrégé ; revendications 1-19 --- | 1-32 |
| | -/-- | |

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

PCT/FR 01/02117

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

| Catégorie | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents | no. des revendications visées |
|-----------|---|-------------------------------|
| A | WO 97 09400 A (CHARMOT DOMINIQUE ; ADAM HERVE (FR); CORPART PASCALE (FR); RHONE PO) 13 mars 1997 (1997-03-13) revendications 1-9 | 1-32 |
| A | US 5 306 501 A (VIEGAS TACEY X ET AL) 26 avril 1994 (1994-04-26) revendications 1-20 | 1-32 |

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale No

PCT/FR 01/02117

| Document brevet cité au rapport de recherche | | Date de publication | Membre(s) de la famille de brevet(s) | Date de publication |
|---|---|------------------------|--|--|
| WO 9810274 | A | 12-03-1998 | US 6001232 A US 5989399 A AU 4409897 A | 14-12-1999 23-11-1999 26-03-1998 |
| FR 2788008 | A | 07-07-2000 | AU 3048800 A WO 0040958 A | 24-07-2000 13-07-2000 |
| US 4542200 | A | 17-09-1985 | CA 1206666 A DE 3380450 D EP 0087995 A JP 1027383 B JP 1540623 C JP 58143261 A US 4504641 A | 24-06-1986 28-09-1989 07-09-1983 29-05-1989 31-01-1990 25-08-1983 12-03-1985 |
| EP 0850963 | A | 01-07-1998 | JP 10192891 A JP 11060652 A JP 11080288 A CN 1190659 A US 6166149 A | 28-07-1998 02-03-1999 26-03-1999 19-08-1998 26-12-2000 |
| US 5225491 | A | 06-07-1993 | US 4791189 A US 4983689 A US 5061772 A US 5120790 A US 5177151 A US 5506320 A EP 0291761 A JP 1045425 A CA 2070538 A EP 0539655 A JP 5156172 A | 13-12-1988 08-01-1991 29-10-1991 09-06-1992 05-01-1993 09-04-1996 23-11-1988 17-02-1989 29-04-1993 05-05-1993 22-06-1993 |
| WO 9813443 | A | 02-04-1998 | AU 712481 B AU 4705397 A BR 9711417 A CN 1234823 A EP 0931127 A JP 2001501653 T | 11-11-1999 17-04-1998 24-08-1999 10-11-1999 28-07-1999 06-02-2001 |
| US 5552028 | A | 03-09-1996 | US 5567292 A US 5916426 A AU 1254295 A AU 677495 B AU 1299495 A CA 2179013 A EP 0734521 A JP 9504375 T JP 3122846 B WO 9516910 A WO 9516911 A | 22-10-1996 29-06-1999 03-07-1995 24-04-1997 03-07-1995 22-06-1995 02-10-1996 28-04-1997 09-01-2001 22-06-1995 22-06-1995 |
| US 4504641 | A | 12-03-1985 | CA 1206666 A DE 3380450 D EP 0087995 A JP 1027383 B JP 1540623 C JP 58143261 A | 24-06-1986 28-09-1989 07-09-1983 29-05-1989 31-01-1990 25-08-1983 |

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale No

PCT/FR 01/02117

| Document brevet cité au rapport de recherche | Date de publication | Membre(s) de la famille de brevet(s) | Date de publication |
|---|------------------------|---|------------------------|
| US 4504641 A | | US 4542200 A | 17-09-1985 |
| WO 9740078 A | 30-10-1997 | US 5883211 A | 16-03-1999 |
| | | AU 3114997 A | 12-11-1997 |
| US 4908405 A | 13-03-1990 | DE 3500180 A | 10-07-1986 |
| | | AT 88195 T | 15-04-1993 |
| | | CA 1290481 A | 08-10-1991 |
| | | DE 3587269 A | 19-05-1993 |
| | | EP 0187391 A | 16-07-1986 |
| | | JP 2115556 C | 06-12-1996 |
| | | JP 8011768 B | 07-02-1996 |
| | | JP 61171712 A | 02-08-1986 |
| EP 0087995 A | 07-09-1983 | CA 1206666 A | 24-06-1986 |
| | | DE 3380450 D | 28-09-1989 |
| | | JP 1027383 B | 29-05-1989 |
| | | JP 1540623 C | 31-01-1990 |
| | | JP 58143261 A | 25-08-1983 |
| | | US 4504641 A | 12-03-1985 |
| | | US 4542200 A | 17-09-1985 |
| EP 0639592 A | 22-02-1995 | JP 2945822 B | 06-09-1999 |
| | | JP 7053645 A | 28-02-1995 |
| | | JP 7053993 A | 28-02-1995 |
| WO 9709400 A | 13-03-1997 | FR 2738573 A | 14-03-1997 |
| | | AU 6934896 A | 27-03-1997 |
| | | EP 0865477 A | 23-09-1998 |
| | | US 6124382 A | 26-09-2000 |
| US 5306501 A | 26-04-1994 | US 5593683 A | 14-01-1997 |
| | | CA 2040460 A,C | 02-11-1991 |
| | | DE 69124416 D | 13-03-1997 |
| | | DE 69124416 T | 04-09-1997 |
| | | DK 455396 T | 11-08-1997 |
| | | EP 0455396 A | 06-11-1991 |
| | | JP 2753152 B | 18-05-1998 |
| | | JP 4225914 A | 14-08-1992 |